

CONTRIBUTION A L'ETUDE SÉROLOGIQUE DE LA PESTE PORCINE

Hypothèses sur la Pathogénie
de la Peste et du Rouget du Porc

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 21 Juin 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Gerhard LANG

Né le 6 Janvier 1927, à NEUNKIRCHEN (Saar)



LYON
BOSC Frères
Imprimeurs-Éditeurs
42, quai Gailleton, 42

1955

CONTRIBUTION A L'ETUDE SEROLOGIQUE
DE LA PESTE PORCINE
HYPOTHESES SUR LA PATHOGENIE DE LA PESTE
ET DU ROUGET DU PORC

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année Scolaire 1954-1955. — N° ~~32~~ 29

CONTRIBUTION A L'ETUDE SÉROLOGIQUE DE LA PESTE PORCINE

Hypothèses sur la Pathogénie de la Peste et du Rouget du Porc

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 21 Juin 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Gerhard LANG

Né le 6 Janvier 1927, à NEUNKIRCHEN (Saar)



LYON
BOSC Frères
Imprimeurs-Éditeurs
42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur. M. JUNG.

Professeurs honoraires } BASSET.
DOUVILLE.
CUNY.

PROFESSEURS

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie, Hygiène du lait	MM. TAPERNOUX
Anatomie descriptive des animaux domestiques. Tératologie.	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale.	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes	LUCAM.
Parasitologie et Maladies parasitaires, Zoologie appliquée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires.	EUZEBY.
Pathologie chirurgicale, Médecine opératoire et Ferrure, Sémiologie, Clinique chirurgicale..	COLLET.
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Sémiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clinique médicale.	BRION.
Pathologie de la Reproduction, Sémiologie et Pathologie de la reproduction chez les animaux domestiques, Obstétrique, Clinique	BERTRAND.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et pathologie générale, Clinique spéciale.	GORET.
Zootéchnie et appréciation des animaux domestiques, aliments du bétail, agronomie et hygiène des animaux, économie rurale	JEAN-BLAIN.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BARONE, FERRANDO, JOUBERT, BOST, MAGAT, Agrégés
MM. COULON, FERNEY, FLACHAT, COTTEREAU.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. le Professeur SEDALLIAN.
Premier Assesseur : M. le Professeur GORET.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur LUCAM.



La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

A MES PARENTS

Faible témoignage de mon affection
et de ma reconnaissance pour tous les
sacrifices qu'ils se sont imposés.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SEDALLIAN

de la Faculté de Médecine de Lyon

Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence du jury de notre thèse.

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORET

Nous exprimons nos sentiments reconnaissants et notre profonde admiration pour un maître et un guide toujours compétent et estimé.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LUCAM

En reconnaissance de la bienveillante sympathie dont il a toujours fait preuve à notre égard.

AVANT-PROPOS

La première idée de ce travail nous a été suggérée au cours d'un stage aux Veterinary Laboratories de Weybridge (Angleterre). Nous sommes heureux d'exprimer nos remerciements aux Docteurs R. Hudson et W. Mansi, de ce laboratoire, pour l'accueil favorable dans leurs services et la bienveillance avec laquelle ils nous ont initié dans la recherche scientifique. La technique que nous avons adoptée pour nos expériences est étroitement calquée sur celle employée par le Docteur Mansi. Le Docteur Hudson a bien voulu nous confier sa souche du virus suipestique lapinisé. Sous la haute autorité de M. le Professeur Goret, les travaux expérimentaux ont été effectués au Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Vétérinaire de Lyon et au laboratoire sérologique de l'Institut Français de la Fièvre Aphteuse, Lyon, dans le cadre des recherches sur les viroses de l'espèce porcine.

Qu'il nous soit permis d'exprimer notre gratitude à M. le Professeur Goret pour la confiance qu'il nous a témoignée en nous donnant ce travail et l'appui sympathique et les conseils éclairés avec lesquels il a guidé notre recherche.

Nous remercions de même les Docteurs Girard et Mackowiak, directeurs de l'I.F.F.A., pour l'aimable hospitalité dans leur institut et l'aide financière permettant la réalisation des recherches.

Nous rendons hommage tout spécialement à notre confrère, le Docteur Camand, Chef du service de Sérologie de l'I.F.F.A., avec lequel — dans des discussions fructueuses — nous avons

pu résoudre maint problème difficile. Nous remercions aussi son assistant, M. Dupasquier, pour son aide technique toujours précieuse.

Pour ses renseignements bibliographiques, nous remercions M. le Professeur Manninger (Budapest).

INTRODUCTION

La peste porcine, inconnue et ignorée en France, jusqu'à l'issue de la dernière guerre mondiale, prend une allure de plus en plus menaçante. Maintenant implantée d'une manière définitive dans le pays, elle s'étend et multiplie sans cesse ses foyers. Les services compétents ont entrepris la lutte contre ce fléau du cheptel français ; des mesures légales sont adoptées pour enrayer l'extension et la dissémination des foyers endémiques. Mais, pour être efficaces, toutes ces mesures supposent un diagnostic précoce et rapide de la maladie. Or, il est bien connu que son identification rencontre des difficultés sérieuses : les germes de sortie (*salmonella*, *pasteurella*, etc.) surajoutant des troubles organiques peuvent modifier complètement l'expression clinique de la maladie. D'autres maladies infectieuses comme le rouget, la grippe des porcelets, la fièvre charbonneuse, la paralysie bulbaire infectieuse, la rage et la maladie de Teschen peuvent simuler des caractères comparables à ceux de la peste, dans leur symptomatologie et le tableau lésionnel. Enfin, dans certains cas, le purpura hémorragique et certaines intoxications prêtent à confusion avec la peste du porc. Devant l'importance du problème, de nombreuses recherches ont été faites en deux directions différentes : l'anatomie pathologique et l'immunologie. Si l'anatomie pathologique a pu contribuer à l'étude des troubles organiques, elle n'a pu fournir, jusqu'à présent, aucun élément valable pour un diagnostic univoque et seules les méthodes expérimentales de l'immunologie et de l'inoculation permettent actuellement l'individualisation de la peste porcine.

Comme la plupart des maladies à ultravirus, la peste du porc laisse après guérison d'une infection naturelle ou d'une inoculation expérimentale, une immunité solide et durable. Démontrée par la réaction de neutralisation, cette immunité résulte de l'apparition d'anticorps spécifiques dans le sérum des ani-

maux convalescents. Se servant de cette activité spécifique des sérums, les méthodes d'étude immunologique employées dans les stations de recherches exigent, comme élément révélateur, l'emploi du seul animal réceptif, le porc, avec tous les inconvénients inhérents :

— Nécessité d'inoculer deux porcs au moins avec le matériel à examiner pour pallier l'incertitude que comporte un seul sujet d'épreuve.

— Obligation absolue d'employer des animaux jeunes et sains, provenant d'exploitations certainement indemnes.

— Insensibilité spontanée ou acquise de certains porcs à l'égard du virus pesteux.

— Durée assez longue de la période d'incubation et, partant, incertitude prolongée du diagnostic.

— Isolement sévère des sujets d'expérience, etc...

En définitive, « ces épreuves sont de réalisation pratique extrêmement difficile, trop onéreuse et ne sont applicables que dans des cas exceptionnels. » (Verge) [59].

La solution idéale du problème serait un procédé *in vitro*, peu coûteux et tout de même suffisamment spécifique. Cependant, à l'encontre des bactéries, les ultra-virus ont, par définition, ceci de particulier, qu'ils sont invisibles par les moyens usuels du laboratoire. D'autre part, ne se multipliant qu'en milieu vivant, ils sont difficilement séparables de leur substratum biologique. La simple transposition, pour l'étude des virus, des méthodes sérologiques utilisées en bactériologie se heurte à ces obstacles. Fait exception, cependant, l'épreuve de la fixation du complément qui, par sa conception, sa sensibilité et sa spécificité, se révèle un instrument idéal dans les investigations virologiques, contribuant largement à l'établissement des notions de type et de variante immunologiques. Vu les avantages d'ordre pratique et dogmatique, les chercheurs intéressés à la peste porcine ont attaché une certaine importance à cette méthode d'investigation.

PREMIERE PARTIE

TRAVAUX ANTERIEURS

Les premiers travaux à ce sujet remontent au début de ce siècle. Uhlenhut et coll. [100], Hutyra, Manninger travaillant avec des extraits aqueux et alcooliques de sang et d'organes virulents n'ont pu tirer aucun bénéfice de leurs recherches. De même Connaway et coll. [8], en 1911, avec des préparations antigéniques à partir du sang, de la rate et des reins de porcs à peste, obtiennent des résultats insatisfaisants.

Par contre, A. Dedjulin [16], quelques années auparavant, avait décrit un procédé qui lui aurait donné des résultats plus favorables. Utilisant des extraits aqueux à 1/10 et formolés à 0,5 % de moelle osseuse d'un porc en période d'incubation de peste, il observe l'inhibition de l'hémolyse en combinant l'antigène dilué au 1/5 avec des dilutions décroissantes de sérums de porcs atteints de peste. Son antigène, conservé sur glace, est tenu à l'abri de la lumière. Pour la réaction, les tubes à essai sont incubés au bain-marie deux heures avant et deux heures après l'addition du système hémolytique, la lecture étant faite après une nuit de repos à la glacière.

En 1915, D.-J. Healy et W.-V. Smith [35] rapportent également un succès avec un antigène préparé à partir de ganglions mésentériques hypertrophiés, mis en suspension dans du bouillon de bœuf glucosé à 1 % à raison de 1 gr. d'organes (sélectionnés selon l'aspect lésionnel) pour 10 gr. de bouillon neutre. Ce mélange est gardé huit jours à la température de + 4° C. Les sérums de porcs immunisés étaient utilisés après une durée de conservation sur glace de quatre mois. Les résultats obtenus amenèrent les auteurs à conclure que cet antigène montre des différences frappantes en combinaison avec du sérum frais du porc normal, de lapin et de bœuf d'une part, et d'autre part, avec les sérums de porcs hyper-immunisés contre la peste. Cet

antigène ne serait pas présent dans des préparations fraîches, mais il requiert une période définie pour se développer. Il passe à travers des filtres en porcelaine ordinaire, mais est retenu par la bougie Chamberland F. Enfin, le pouvoir antigénique disparaît après un certain temps.

Voyant en *Spirochaeta hyos* un germe fréquemment isolé des ulcères intestinaux de la peste, un élément étiologique non négligeable, Walter-E. King et R.-H. Drake [55] démontrent une fixation de complément par des cultures pures de ce germe mis en contact avec du sérum de porc infecté expérimentalement avec du sang virulent de peste. Selon les auteurs, cette propriété apparemment spécifique des sérums apparaît déjà à la période d'incubation et se maintient jusqu'à la mort de l'animal ou disparaît quand l'immunité active devient complète. Des sérums de porcs sains ou infectés expérimentalement avec *B. cholerae suis*, le bacille de Ghon-Sachs, *B. anthracis*, *Staph. aureus* et d'un porc atteint de pneumonie réagissaient négativement avec cet antigène.

Ces travaux prometteurs n'ont pas obtenu de suffrages favorables, par la suite. On attribuait généralement l'insuccès à la teneur insuffisante en virus des liquides d'antigène employés. Cependant, dans une étude détaillée et en considération des résultats défaillants par la déviation du complément dans d'autres infections porcines d'origine bactérienne dont les agents pathogènes possèdent dans d'autres circonstances un fort pouvoir antigénique (infections paratyphiques, avortement brucelique), Manninger aboutissait à la conclusion que les sérums de porcs sont les vrais responsables des échecs. Doués d'un fort pouvoir hémolytique vis-à-vis des hématies de mouton de degré extrêmement variable selon les animaux, ces sérums employés dans le dispositif classique de la réaction de Bordet-Wassermann surajouteraient leur effet lytique au complexe révélateur à titre déterminé, de telle sorte que les réactions spécifiques proprement dites ne peuvent plus se manifester. Et, selon ce même auteur, si Dedjulin, Healy et Smith ont pu rapporter des résultats apparemment favorables avec la déviation du complément dans la peste porcine, c'est grâce à la coïncidence de l'action hémolytique et anticomplémentaire du sérum de porc, les deux facteurs étant portés par des fractions différentes des protéines sériques : le pouvoir anticomplémentaire dépendrait

du quotient albumino-globuline, le pouvoir hémolytique est attribué au troisième composant (C'3) thermostable du complément dont le taux est particulièrement élevé dans les sérums de porc.

Ce travail de Manninger semble être la dernière publication, avant la guerre, concernant la déviation du complément dans les maladies porcines. Depuis ce temps, d'autres travaux se rapportant à cette question ont été poursuivis pouvant servir de bases nouvelles pour attaquer le problème.

Bankowski et coll. [5] rapportent des résultats favorables pour la différenciation des types immunologiques du virus de l'exanthème vésiculeux du porc par la fixation du complément, avec des sérums de pores immunisés. Pour parer à l'inconvénient présenté par « l'activité procomplémentaire » des sérums porcins, on titrait le complément en présence de chaque sérum à l'étude. Le test proprement dit est exécuté avec une unité complémentaire (titré en présence du sérum porcin) en supplément à ce que le titrage préalable avait indiqué.

C.-E. Rice, au Canada, a publié ces dernières années une série de travaux sur la fixation du complément dans des viroses animales et humaines. En collaboration avec Mc Kercher [82], elle étudie la stomatite vésiculeuses chez le bœuf, le cheval et le porc.

Ces auteurs font les mêmes constatations que Manninger sur les sérums du porc : 1° d'une manière générale, la fixation du complément est peu satisfaisante pour le titrage des anticorps dans des sérums de cette espèce. Les réactions sont beaucoup plus faibles que l'on pourrait attendre d'après la teneur en anticorps déterminé par l'agglutination.

Ainsi les sérums de pores infectés par *Brucella abortus* ou par *Erysipelothrix rhusopathiae* peuvent avoir des titres agglutinants relativement importants mais montrent par contre une très faible fixation du complément si on les met en contact avec ces organismes.

Comme Manninger [63] avait déjà observé que dans le système bacille morveux : antisérum de cheval — un système de fixation spécifique idéale — l'addition de 0.2 cc. de sérum de porc normal inactivé à 55° C. diminue la fixabilité du complément, Rice et Mc Kercher constatent le même effet du sérum normal de porc sur les trois systèmes suivants :

- 1° Suspension du bacille de rouget : antisérum de lapin.
- 2° *Brucella abortus* : antisérum de cobaye et de bœuf.
- 3° Bacille tuberculeux bovin : antisérum de cobaye.

Quant à la stomatite vésiculeuse, ils observent dans de tels essais des « prozones », c'est-à-dire que le degré de l'hémolyse est plus fort avec des concentrations fortes qu'avec des concentrations intermédiaires du sérum. Pour expliquer ces prozones, les auteurs supposent la présence d'anticorps incomplets comme on en rencontre dans certains sérums humains et bovins. Ces anticorps incomplets en s'unissant à l'antigène ne fixent pas le complément et bloquent ainsi partiellement l'union entre l'antigène et des anticorps complets fixateurs du complément. Les essais utilisant une méthode indirecte ne pouvaient cependant pas déceler d'anticorps fixateurs résiduels. On attribuait donc les prozones à des facteurs non spécifiques des sérums porcins, comme l'hémolysine anti-G.R. de mouton, le troisième composant du complément et à d'autres fractions sériques notamment de constitution lipidique.

Un intérêt particulier ressort du travail de Nakamura et coll. [72]. Il a pour objet la peste bovine qui dans beaucoup d'aspects présente d'étroits parallèles avec la peste du porc quant à la spécificité de son agent causal, du tableau lésionnel, de l'épidémiologie et de l'immunisation. En collaboration avec Goto, Nakamura décrit une méthode de déviation du complément qui leur semble avoir donné satisfaction en employant des sérums de lapins immunisés par le virus lapinisé de la peste bovine et des antigènes préparés à partir de ganglions lymphatiques de veaux infectés artificiellement. Ensuite, par extrapolation de ces résultats, Nakamura et Ishii étaient capables de déceler l'anticorps spécifique dans les sérums de bovins guéris de la maladie. Dans la réaction, ces sérums étaient employés non chauffés, le chauffage détruisait leur aptitude réactionnelle spécifique.

L'adaptation du virus de la peste porcine au lapin par Baker [1, 2] et Koprowski et coll. [57] nous a incité à faire des recherches analogues dans la peste du porc.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

I. — Principe général des recherches.

L'épreuve de la fixation du complément est utilisée pour mettre en évidence, par voie indirecte, la formation d'un complexe antigène : anticorps. Elle se décompose en deux réactions distinctes :

1° la réaction antigène : anticorps spécifique = $AG + AC \rightarrow K$,

2° la réaction révélatrice ou d'hémolyse = $GR + SH \rightarrow K$.

Les deux réactions requièrent le concours d'une quantité déterminée de complément (K). Si la première réaction absorbe tout le complément disponible, la deuxième réaction ne peut pas avoir lieu. La réaction sera donc positive si les globules rouges n'hémo lysent pas ; elle sera négative, au contraire, si l'hémolyse se produit.

Comme pour toute réaction sérologique, la fixation du complément « exige pour se produire et devenir apparente que le rapport entre les concentrations de l'antigène et de l'anticorps soit compris entre certaines limites, variables suivant la technique et la nature même de l'antigène et de l'anticorps que l'on étudie » (Laporte).

Pour réaliser une telle réaction, il importe, donc, de déterminer les proportions à l'intérieur du système, tout excès de l'un ou de l'autre constituant peut conduire à des résultats erronés. Pour la recherche de l'équilibre réactionnel, nous disposons de deux éléments stables et titrables : le complément et le système hémolytique. Les deux facteurs essentiels, l'antigène et le sérum immunisé sont inconnus, mais on présume chez eux la présence de substances spécifiques qui font défaut dans les

tissus et sérums normaux. Ces deux facteurs, cependant, sont de constitution complexe et possèdent, à côté de leur activité spécifique, des propriétés secondaires non spécifiques capables d'influencer notre système révélateur. La détermination d'une fixation spécifique ne pourra se faire que compte tenu de ces réactions non spécifiques, c'est-à-dire que nous devons opposer la réaction-test à des réactions-témoins dont les résultats doivent être obligatoirement négatifs. En conséquence, chaque essai comportera donc une série positive et une série négative. Ceci peut se faire de deux manières :

- 1° Utilisation d'un sérum positif et d'un sérum négatif.
- 2° Utilisation d'un antigène positif et d'un antigène normal.

Il est également utile de se renseigner sur les propriétés des différents facteurs isolés vis-à-vis du système révélateur, ce qui sera fait par un titrage du complément en présence des antigènes seuls et des sérums seuls.

A partir des indications fournies par ces différents titrages, nous pouvons déduire les quantités nécessaires pour obtenir les meilleurs résultats.

L'INCUBATION.

Un problème capital dans nos recherches était la durée de l'incubation du complexe antigène-anticorps en présence du complément. Les virologues que nous avons consultés se partagent en deux camps : le premier groupe, dont la technique est plus proche de la réaction de Bordet-Wassermann classique, emploie l'incubation rapide au bain-marie à 37°C. pendant trente minutes à une heure environ, comme c'est le cas pour les virus de la fièvre aphteuse, l'hépatite infectieuse du chiot (Rubarth), le virus de la chorio-méningite lymphocytaire (Mansi), les virus des oreillons (Lundbaeck) [28] et d'autres. L'autre groupe préconise l'incubation prolongée, technique plus spécialement adaptée à l'étude des virus. Bedson, en particulier [110], un des principaux promoteurs de cette idée, insiste sur la nécessité de laisser s'effectuer l'union entre antigène et anticorps pendant une période de fixation suffisante pour obtenir une différenciation nette entre les réactions positives et négatives.

Pour tenir compte de l'extrême sensibilité de l'alexine à la

chaleur, il est nécessaire de garder les portoirs soit à la température ambiante (au maximum pendant 4 heures) ou mieux au réfrigérateur à $+4^{\circ}\text{C}$., où l'on peut prolonger le séjour jusqu'à 48 heures.

Cette dernière méthode de l'incubation prolongée a permis d'obtenir des résultats concluants dans des maladies à ultra-pour lesquelles la réaction de fixation du complément a été considérée pendant longtemps comme impraticable. Elle a donné satisfaction dans l'étude du virus de la peste bovine (Nakamura [72], Cooper [13]), du virus de l'exanthème vésiculeux du porc (Bankowski [5]), de l'herpès simplex (Haywards [34]) et d'autres.

II. — Préparation des sérums hyperimmuns de lapin.

Le choix de l'espèce animale qui devrait nous fournir nos producteurs de sérum hyperimmun était dominé par les réflexions suivantes :

1° Puisque le sérum de porc renferme une hétérohémolysine interférant dans la réaction de fixation du complément, la solution la plus simple est de s'adresser à une autre espèce non pourvue de cette propriété gênante.

2° Notre antigène étant d'origine porcine, le matériel virulent servant à l'injection des animaux à sérum doit — de préférence — provenir de sources autres que du porc pour éviter l'apparition d'anticorps tissulaires non spécifiques qui pourraient résulter d'une injection de protéines hétérologues.

Or, jusqu'à présent, le virus suipestique n'a pu être cultivé que chez le porc, dans des cultures de tissu testiculaire de porc et chez le lapin.

Enfin, la réussite de Nakamura et coll. avec le virus lapinisé dans l'étude sérologique de la peste bovine était un autre argument pour fixer notre choix sur le lapin comme animal producteur de sérum.

Deux souches de virus suipestique lapinisé ont été utilisées pour la préparation des sérums :

1° La souche SFA HUDSON-WEYBRIDGE 49^e passage sur lapin

(rate de lapin lyophilisée et conservée en ampoules scellées au congélateur).

2° La souche ROVAC, vaccin commercialisé par les FEDERLE LABORATORIES.

Pour chaque souche, 13 passages successifs sur lapins furent effectués selon la technique décrite par J.-R. Hudson-Weybridge : chaque passage comptait deux jeunes lapins (entre 3 et 5 mois). Ils furent sacrifiés le quatrième jour après l'injection intraveineuse du matériel virulent du passage précédent. Les rates de ces animaux, prélevées aseptiquement, furent triturées au mortier et la suspension du mélange des deux rates de la même souche servait pour l'inoculation suivante. Afin de pourvoir aux besoins de l'injection des lapins producteurs de sérum, le 13° passage était fait sur 6 lapins par souche. La virulence de ce matériel était vérifiée sur 6 porcs qui résistèrent tous à l'injection d'épreuve, tandis que les témoins succombèrent à la maladie.

Les lapins producteurs de sérum étaient groupés en 6 lots de 5 animaux. Nous choissions des animaux adultes, bien portants (de 2,5 à 3 kgs), appartenant aux deux sexes. Avant la première injection, nous prélevions à chaque animal, par ponction cardiaque, 20 cc. de sang dont le sérum devrait servir comme témoin négatif dans les épreuves ultérieures.

Lot N° 1 reçut une seule injection, dans la veine marginale de l'oreille, de 2 cc. d'une suspension à 20 % dans de l'eau physiologique de rate, souche Rovac.

Lot N° 2 reçut 2 injections intraveineuses à 4 jours d'intervalle d'une suspension analogue de souche SFA Hudson-Weybridge.

Lot N° 3 reçut 2 injections intraveineuses à 8 jours d'intervalle de cette même souche SFA Hudson-Weybridge.

Lot N° 4 reçut 2 injections à 1 jours d'intervalle et une injection à 8 jours d'intervalle de 2 cc. de sang virulent de lapin, souche SFA Hudson-Weybridge.

Lot N° 5 reçut 3 injections à 1 jours d'intervalle de 2 cc. d'une suspension de rate de lapin, souche Rovac.

Lot N° 6 reçut 2 injections à 4 jours d'intervalle et 2 injections à 8 jours d'intervalle de cette même suspension de rate, souche Rovac.

Pour la récolte du sérum, un animal de chaque groupe fut saigné à blanc, le 7^e, le 12^e, le 14^e, le 21^e et le 30^e jour après la dernière injection du groupe.

Les sérums obtenus étaient conservés au congélateur à 20° C. Avant les épreuves seulement, ils furent dilués et inactivés selon les besoins de l'expérience.

TABLEAU DES SERUMS DE LAPIN UTILISES DANS LES ESSAIS

Lot N° 1 : 1 injection i/v de 2 cc. de susp. à 20 % de rate ROVAC.

Désignation de l'animal	Saignée après :	Résultat sérologique
LRS 11	7 jours	—
LRS 12	12 —	±
LRS 13	14 —	Anticomplémentaire
LRS 14	21 —	±
LRS 15	30 —	Mort avant le délai de saignée

Lot N° 2 : 2 injections i/v à 4 jours d'intervalle de rate SFA HUDSON.

LWS 1	7 jours	—
LWS 2	12 —	±
LWS 3	14 —	++
LWS 4	21 —	+
LWS 5	30 —	—

Lot N° 3 : 2 injections à 8 jours d'intervalle de rate SFA HUDSON.

LWS 6	7 jours	Anticomplémentaire
LWS 7	12 —	—
LWS 8	14 —	+++
LWS 9	21 —	Anticomplémentaire
LWS 10	30 —	—

Lot N° 4 : 2 injections à 4 jours, 1 à 8 jours d'intervalle de sang virulent de lapin SFA HUDSON.

LWS 11	7 jours	+
LWS 12	12 —	+
LWS 13	14 —	+
LWS 14	21 —	±
LWS 15	30 —	Malade, sacrifié

Lot N° 5 : 3 injections i/v à 4 jours d'intervalle de rate ROVAC.

LRS 1	7 jours	—
LRS 2	12 —	+
LRS 3	14 —	+
LRS 4	21 —	—
LRS 5	30 —	—

Lot N° 6 : 2 injections i/v à 4 jours, 2 injections à 8 jours d'intervalle de rate ROVAC.

LRS 6	7 jours	Anticomplémentaire
LRS 7	12 —	+
LRS 8	14 —	+
LRS 9	21 —	—
LRS 10	30 —	Anticomplémentaire

III. — Préparation des antigènes.

L'antigène spécifique, théoriquement représenté par le virus pestique ou des substances solubles provenant de lui, doit être cherché dans son substratum naturel, l'organisme du porc. Il est évident qu'on choisira notamment ces organes pour lesquels les essais d'inoculation ont démontré la plus forte virulence. Le virus étant de caractère hémotrope, ce seront d'abord les éléments du sang et le sérum sanguin, puis ceux de l'appareil hématopoïétique, les ganglions lymphatiques, la rate, la moelle osseuse, etc. On pourrait également s'adresser à des organes montrant des lésions comme le rein, les centres nerveux, ou encore à l'urine qui serait également virulente. Nous avons fait nos essais essentiellement avec les ganglions lymphatiques, la rate et le sérum sanguin.

La plupart des prélèvements étaient effectués sur des porcs infectés expérimentalement et abattus dans la phase d'invasion de la maladie quand la courbe de température a atteint le degré le plus élevé (entre le troisième et le sixième jours après l'inoculation). L'obligation d'utiliser ces pores, qui d'ailleurs étaient destinés à la production industrielle du virus pestique, s'est révélée ultérieurement très néfaste.

Nous avons pu prélever des organes provenant de quelques animaux à des stades plus avancés de la peste, soit d'animaux agonisants, soit d'animaux présentant des symptômes chroniques et des convalescents. Avec ces prélèvements, il était plus facile d'obtenir des résultats.

Les organes étaient prélevés aussi aseptiquement que possible. Ils étaient conservés au congélateur à -20° C.

Parmi les nombreuses techniques de préparation de l'antigène indiquées dans la littérature, la meilleure semble être la technique utilisant la congélation et la décongélation alternatives, sans chauffage des extraits.

Quelques-uns de nos antigènes étaient lyophilisés, sans que la valeur antigénique fût augmentée ou diminuée par rapport à la technique précédente.

Les suspensions tissulaires étaient préparées à partir de fragments d'organes nettoyés soigneusement de leur gangue adipo-conjonctive très importante dans l'espèce porcine. La quantité

pesée fut triturée au mortier stérile avec du sable et on additionna le volume nécessaire de solvant pour obtenir une suspension à 20 %. Le solvant étant soit de l'eau physiologique neutre, acidifiée à PH 5,5 avec de l'acide chlorhydrique N/10, mais avant tout d'un tampon phosphaté isotonique.

L'utilisation d'un solvant acidifié nous était suggéré par les articles de Chapin, Powick et Mc Bryde (1939) et de la Biochem-Div. U.S. Bureau of Animal Ind. (1938), selon lesquels la virulence est conservée plus longtemps à pH 5-5,5 qu'à un pH neutre. Nous n'avons pu tirer aucun bénéfice, dans nos expériences de la fixation du complément, de cette constatation.

Le tampon phosphaté était de la formule suivante :

Phosphate disodique	57,004 gr.
Phosphate monopotassique	5,446 gr.
Chlorure de sodium	29,000 gr.
Eau bidistillée	10 litres.

Ce tampon permettait d'obtenir des résultats plus nets. Les suspensions n'étaient pas centrifugées, mais nous laissons sédimenter spontanément les particules solides.

Les antigènes étaient congelés dans des tubes à essai, fermés par des bouchons en caoutchouc. Après une nuit à -20° , ces tubes étaient retirés du congélateur, pour les laisser dégeler à la température du laboratoire, puis étaient réintroduits au congélateur.

Ce procédé a un avantage précieux : il permet d'éliminer partiellement l'hémolysine antimouton des antigènes. T. Ito, en 1912, avait déjà constaté que des sérums ainsi traités se séparaient en trois couches distinctes : une zone supérieure, claire comme de l'eau, une zone moyenne légèrement colorée et une zone inférieure intensivement colorée. La couche supérieure est en général exempte d'anticorps hémolytiques, tandis que la zone inférieure en est très riche, la zone moyenne étant intermédiaire entre les deux.

Nous avons fait la même observation avec nos antigènes : à la deuxième répétition de la décongélation, on pouvait distinguer une séparation nette en trois phases de la suspension, car, au moment de la décongélation, les parties les plus chargées en matières tissulaires et substances organiques solubles dége-
laient d'abord et se déposaient au fond du tube, tandis qu'un

noyau de glace plus léger submergeait à la surface et ne se décomposait qu'en dernier lieu. La zone supérieure était limpide, la zone moyenne était légèrement trouble, le fond renfermait un culat tissulaire superposé d'une couche très foncée, surtout quand les organes étaient riches en sang.

Dans les essais, la zone supérieure était sans activité antigénique ni hémolytique, la zone inférieure était très hémolytique, mais la zone moyenne était suffisamment antigénique sans posséder un pouvoir hémolytique excessif, ce qui est important, comme nous le verrons ultérieurement.

Bien entendu, ceci vaut pour les antigènes pestiques, les antigènes normaux étaient très peu ou pas hémolytiques. En conséquence, les antigènes utilisés dans les tests étaient prélevés dans la zone moyenne, aussi bien pour les antigènes pestiques que pour les antigènes-témoins.

Nous avons pris soin d'éviter toute manœuvre pouvant diminuer le pouvoir infectant de l'antigène. Trois facteurs virulicides ont ici une importance particulière : la chaleur, la lumière solaire (qui rend les sérums inactifs en 5 à 9 heures) et la putréfaction.

Déjà Dedjulin [16], dans ses essais favorables, a pris la précaution de mettre ses antigènes à l'abri de la lumière.

Nos antigènes n'étaient sortis du réfrigérateur ou du congélateur que pour prélever la quantité nécessaire pour le travail journalier. La décongélation des tubes était faite dans des boîtes de fer blanc pour les protéger de l'irradiation solaire. Enfin, toute trace d'altération par des saprophytes entraînait l'élimination de l'épreuve de l'échantillon.

Pour chaque antigène spécifique, nous préparions simultanément des antigènes-témoins à partir de tissus homologues provenant de porcs abattus aux abattoirs municipaux de Lyon et reconnus exempts de toute lésion. Ces antigènes-témoins subirent les mêmes procédés de préparation que les antigènes spécifiques. Pour diminuer le risque des infections inapparentes et éviter les cas de peste porcine guérie, nous avons tenu à rechercher ces prélèvements parmi des porcs appartenant à des lots dont l'origine de régions indemnes de peste pouvait être prouvée.

IV. — Le complément.

Le complément, ou alexine, était préparé selon la technique de laboratoire habituelle. En principe, nous avons utilisé un mélange de sérums frais de 10 à 12 cobayes mâles adultes, à jeun depuis 24 heures. Les animaux étaient saignés par ponction cardiaque. Le sérum récolté était conservé au congélateur à -20° . Ainsi son titre restait assez stable pour au moins trois mois. A côté du complément congelé, nous avons utilisé du complément lyophilisé qui nous était fourni par l'Institut Mérieux, à Lyon. Les dilutions du complément étaient faites dans du tampon au véronal.

On admet généralement que l'alexine de cobaye, de par son titre élevé et la constance de son action, réunit tous les avantages pour favoriser la formation du complexe antigène-anticorps. Cependant, comme Hoët, Bloomfield et Coombs [44] l'ont démontré, à côté du titre hémolytique du complément, il y a d'autres facteurs à considérer dans le choix du complément pour une réaction hémolytique de fixation du complément. Ainsi dans le système malléine + sérum antimalléine, le complément de cobaye n'était pas du tout le plus sensible, et le complément de lapin montrait également des potentialités étonnantes.

Comme nous l'exposerons ultérieurement, le complément de cobaye est un activateur puissant de l'hétéro-hémolysine naturelle antimouton du sérum porcin, qui semble être un facteur essentiel dans l'impossibilité d'emploi du sérum du porc pour la réaction de la déviation du complément.

Nous avons pris connaissance trop tard de cet article, ainsi nous n'avons pas essayé les compléments d'autres espèces animales, mais il semble qu'en changeant le complément, il pourrait être possible d'améliorer notablement les résultats.

Le fait relaté par Hoët et coll. que les sérums du porc sont anticomplémentaires avec le complément du lapin est une autre preuve que les sérums de porc sont à la fois anticomplémentaires et procomplémentaires, comme ceci a été déjà démontré indirectement par Manninger [63]. Le complément du cobaye est capable d'activer l'hémolysine du sérum du porc à un degré beaucoup plus élevé que le complément du sérum du

porc. Il doit s'agir d'un composant du complément qui est plus actif chez le cobaye que chez le porc et le lapin. Il devrait s'agir de C' 1 ou de C' 4, mais plutôt de C' 4, car dans le fractionnement des séroprotéines, C' 1 et C' 3 sont avant tout précipités avec les globulines, C' 2 et C' 4 restant dans le surnageant albuminique (Cushing Jr. [14]). Or, la fraction globuline du porc est fortement hémolytique avec la fraction albumine du complément de cobaye tandis que la fraction albumine du porc n'hémolyse pas avec la fraction globuline du porc, et l'hémolyse est également aussi insignifiante avec la fraction globuline du porc qu'avec la fraction globuline du cobaye.

V. — Le système hémolytique.

Le système hémolytique représente l'élément révélateur dans notre épreuve. C'est une suspension dans de l'eau physiologique d'érythrocytes de mouton sensibilisés par l'ambocepteur hémolytique spécifique. Les globules rouges sont employés aussi frais que possible. Le sang du mouton, récolté deux fois par semaine aux abattoirs municipaux de Lyon, était soit défibriné par addition d'une solution à 10 % de citrate de Na à raison de une pour neuf parties, soit mélangé immédiatement à la récolte à parties égales avec la solution d'Alsever de la formule :

Dextrose.	2,05	grs.
Chlorure de Na	0,42	grs.
Citrate trisodique.	0,80	grs.
Acide citrique.	0,035	grs.
Eau distillée.	q. s.	pour 1.000 cc.

Par ce dernier procédé, on pouvait garder les hématies une semaine sans que leur résistance fût notablement diminuée. Après un triple lavage dans de l'eau physiologique la quantité de globules rouges nécessaires pour les besoins de l'expérimentation était prélevée dans le culot de centrifugation et mise en suspension à 2 % dans de l'eau physiologique. L'ambocepteur du sérum hémolytique employé était fourni par l'Institut Pasteur à Paris. Il est préparé sur lapins hyper-immunisés et stabilisé

dans un excipient glycériné au titre fixe de 10.000 U I. Nous l'avons utilisé en dilution à 1 : 1.500 ce qui représente 3 DMH par cc. pour le mélange à parties égales de la suspension globulaire et de la dilution du sérum hémolytique.

VI. — Résultats.

Notre première série d'essai a été faite avec les sérums des lapins hyper-immunisés, en employant les deux modalités suivantes :

A. — Opposition d'un sérum négatif à un sérum positif du même lapin, en utilisant un antigène déterminé de porc pesteux. Elle devrait nous permettre de constater les changements du sérum chez le lapin ayant reçu des injections de virus suipélique.

B. — Titrage du pouvoir fixateur du complément d'un antigène positif et de son témoin homologue, en combinaison avec un sérum de lapin hyper-immunisé. Ce dernier dispositif réalise approximativement les expériences de Nakamura et coll. pour la peste bovine.

La première modalité étant essentiellement destinée à l'étude des sérums, nous avons employé avant tout des dilutions du sérum, tandis que pour la deuxième modalité, des dilutions d'antigène étaient le principal dispositif d'essai.

Parmi nos prélèvements d'organes, le cerveau, le foie, le rein, la rate ainsi que l'urine et le sérum sanguin ne donnaient que des résultats négatifs. Les rates, en particulier, étaient soumises à un examen attentif, mais on obtenait ou bien des réactions négatives (hémolyse plus prononcée pour les combinaisons pesteuses, que pour les combinaisons témoins), ou bien des réactions antirates (résultats semblables pour l'antigène pestique ou témoin) selon le lapin producteur de sérum, cette dernière réaction a été attribuée au fait que les lapins étaient inoculés avec des suspensions spléniques de lapins. Seules les suspensions de ganglions lymphatiques donnaient des résultats satisfaisants que nous exposons ici (Tabl. I).

Ce tableau représente les résultats des sérums de 10 lapins chez lesquels on pouvait déceler l'anticorps spécifique fixateur

du complément. Les sérums des lapins LWS 1, 5, 7, 10 et LRS 1, 4, 5, 9 et 11 étaient négatifs. Quatre lapins donnaient des réactions douteuses : LWS 2, 11 et LRS 12 et 13. Chez cinq lapins, les sérums étaient fortement anticomplémentaires : LWS 6, 9 et LRS 6, 10 et 13.

Les résultats de la réaction spécifique (partie gauche du tableau I) ont été obtenus en différents essais pour lesquels du complément de différents lots de cobayes a été employé. De ce fait leur valeur comparative n'est que relative. Néanmoins, il ressort nettement que la meilleure différenciation est obtenue

TABLEAU I

Légende :

4 = inhibition totale.
3 = inhibition 75 %
2 = inhibition 50%

I = inhibition 25 %
tr = traces d'inhibition.
0 = pas d'inhibition;
hémolyse totale

SÉRUM de LAPIN	REACTION TEST.		TITRAGE des SÉRUMS	
	sérums positifs	sérums négatifs	sérums positifs	sérums négatifs
	dilutions des sérums		dilutions du complément	
	$\frac{I}{4}$ $\frac{I}{8}$ $\frac{I}{16}$ $\frac{I}{32}$ $\frac{I}{64}$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{16}$ $\frac{1}{32}$ $\frac{1}{64}$	$\frac{I}{10}$ $\frac{I}{15}$ $\frac{I}{20}$ $\frac{I}{25}$ $\frac{I}{30}$	$\frac{I}{10}$ $\frac{I}{15}$ $\frac{I}{20}$ $\frac{I}{25}$ $\frac{I}{30}$
LWS 3	4 4 3 2 I	4 3 I 0 0	0 0 0 tr 2	0 tr 2 3 3
LWS 4	4 4 2 2 I	4 I tr 0 0	0 0 0 tr 1	0 0 0 tr 2
LWS 8	4 4 3 I tr	3 0 0 0 0	0 0 0 0 tr	0 0 0 0 I
LWS 11	4 3 3 2 I	4 I 0 0 0	0 0 0 tr I	0 0 0 I ~
LWS 12	4 4 4 3 2	4 4 3 I tr	0 tr tr 2 2	tr I 2 3 4
LWS 13	4 4 3 I tr	3 3 I 0 0	0 0 0 tr 2	0 0 I 3 3
LRS 2	4 3 3 2 I	4 2 tr 0 0	0 0 I 2 3	0 0 2 3 4
LRS 3	4 4 4 3 I	4 2 I tr 0	0 0 0 tr tr	0 0 tr 2 3
LRS 7	4 4 3 2 tr	4 2 I tr 0	0 0 0 tr tr	0 0 I 2 3
LRS 8	4 3 3 2 I	4 2 2 tr 0	non titré	

avec les sérums du lapin LWS 8. Si ce lapin avait le titre le plus fort, c'est grâce au fait que ses sérums positif et négatif possédaient approximativement le même pouvoir inhibiteur du complément. Dans les titrages des sérums des autres lapins, on ne pouvait démontrer une fixation spécifique du complément qu'en tenant compte des différences entre les sérums positifs et négatifs lors des essais témoins avec des dilutions décroissantes du complément. Il faut se demander pour quelle raison les sérums après l'injection avaient un pouvoir anticomplémentaire moindre que les sérums normaux. Plusieurs explications sont possibles :

1° L'injection intraveineuse a augmenté le titre complémentaire du sérum, comme toute injection intraveineuse le produit chez les animaux.

2° La saignée préalable avait augmenté également le titre du complément, comme le constate déjà O.-V. Hellens [41] pour les sérums de lapins utilisés dans la réaction de Bordet-Wassermann. Une saignée copieuse augmente notablement le titre complémentaire des sérums (Famulari, 1931 et Hannson [37]) tandis que des pertes sanguines faibles mais durables l'abaissent (W. Pfannenstiel [73]). Or, pour le lapin LWS 8, la quantité de sérum récoltée avant l'injection du virus était beaucoup plus faible que pour les autres lapins, dont environ 20 cc. étaient prélevés à ce moment. Evidemment, il doit s'agir des fonctions thermostables, car les sérums étaient chauffés à 64° pendant vingt minutes avant l'emploi.

3° Une troisième possibilité, quoique très hypothétique, doit être envisagée : le virus pestique exalte chez le porc une hétéro-hémolysine naturelle anti-mouton. Le mécanisme de cette hyperhémolysine n'est actuellement pas encore connu. Le virus peut stimuler l'organe producteur de l'hémolysine ; mais, il pourrait aussi bien être doué d'un pouvoir hémolytique propre, comme il a été démontré par Morgan, Enders et Wagley [70] pour le virus des oreillons. Ainsi, il pourrait agir chez le lapin aussi bien que chez le porc.

Personnellement, nous croyons que la saignée joue le rôle principal. On pourrait penser à employer le sérum normal d'un autre lapin pour éviter ce dilemme présenté par la saignée préalable. Ici s'oppose la très forte labilité des sérums de lapin. Il est bien connu combien peut varier le titre anticomplémentaire entre différents lapins, sous l'influence de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques. Pour trouver deux animaux ayant le même pouvoir inhibiteur, il faudrait disposer d'un stock homogène de lapins entretenus dans des conditions semblables. Pour nos recherches, nous n'avions qu'un nombre limité de lapins, provenant du commerce, et nous ignorions leurs antécédents.

A cause de ces variations anticomplémentaires, il n'était pas possible de titrer les sérums de tous les lapins avec la même dose du complément. En général, nous avons titré le complément en présence des sérums du lapin mis à l'essai. Le test

était fait avec trois unités supplémentaires à ce que le titrage préalable avait indiqué. Pour ces raisons, il n'était pas possible de déterminer la meilleure séquence d'inoculation pour la production d'anticorps spécifiques. Néanmoins, il paraît qu'une seule injection n'est pas suffisante ; il faut au moins deux injections à quatre jours d'intervalle mais au-delà le titre n'est que très peu influencé. La saignée entre le dixième et le vingtième jour après la dernière inoculation fournit le meilleur sérum. Aucun sérum, récolté trente jours après l'injection, n'a donné des résultats positifs.

Enfin, comme pour la production d'hémolysines, et comme la production d'anticorps anti- peste bovine (Nakamura, cité par Cooper [13]) l'aptitude à la production d'anticorps antisuipésiques est variable pour les différents sujets.

Après cette série d'essais, notre provision de sérums négatifs était épuisée, tandis que nous disposions encore de la plupart de nos sérums positifs. Les résultats obtenus étaient insuffisants : la lecture des réactions était très difficile, mais surtout c'étaient seulement les ganglions de deux porcelets atteints de peste subaiguë qui étaient utilisables, ainsi qu'une seule préparation antigénique d'un porc atteint de peste aiguë. Enfin, il n'était pas possible de titrer en même temps des antigènes pesteux et normaux. Ces derniers étaient toujours anticomplémentaires. Il restait des facteurs inconnus que nous avons essayé d'étudier dans la deuxième série d'expériences. La première série nous avait cependant permis de sélectionner nos sérums, et elle nous avait démontré que le meilleur taux de dilution du sérum pour obtenir une bonne différenciation était entre $1/8$ et $1/16$.

Depuis Manninger (1923), nous savons que l'obstacle principal pour l'utilisation des sérums du porc dans la déviation du complément est leur fort pouvoir hémolytique. En employant des sérums de lapins, nous croyions avoir éliminé ce facteur. En réalité, il n'en est pas ainsi : l'hémolysine se trouve non seulement dans le sang circulant mais encore dans les différents organes et parenchymes. En 1929, Jules Freund avait déjà constaté que chez le lapin immunisé avec des érythrocytes du mouton, les divers tissus peuvent renfermer l'hémolysine anti-mouton et que le rapport du titre hémolytique du sang et des organes (entre 0,6 et 1,25) est approximativement égal à celui

des anticorps anti-salmonelliques. Or, chez le porc, les choses se présentaient à peu près de la même manière : les ganglions des pores pesteux sont hémolytiques tandis que ceux des pores sains ne le sont pas ou très peu. Presque tous nos extraits ganglionnaires pestiques lysaient des hématies de mouton non sensibilisées aux dilutions de $1/5$ et $1/10$, quelques-unes encore à $1/20$, si on les mettait en contact avec du complément de cobaye à $1/10$. Les ganglions normaux, par contre, ne lysaient qu'aux concentrations de $1/5$ et encore fallait-il parfois des temps d'incubation de deux heures pour déceler une faible hémolyse. Cette différence s'accroissait, si l'on utilisait des érythrocytes sensibilisées au préalable.

La plupart des déboires rencontrés au début de nos recherches étaient dus au fait que nous sommes parti d'une conception erronée : puisque le virus s'attaque essentiellement au système circulatoire et puisque la virulence est maxima à la fin de la phase d'invasion, nous avons fait nos prélèvements en ce moment. Or, à l'ouverture du cadavre des pores abattus, on constate toujours une forte congestion des viscères. Convaincu que les meilleures sources d'antigène seraient les organes les plus lésés, nous avons prélevé soigneusement tous les ganglions hémorragiques et gorgés de sang, laissant à côté ceux qui paraissaient normaux et inaltérés. Plus tard, nous devions constater que dans le sérum de ces pores atteints de peste aiguë, le taux de l'hémolysine est beaucoup plus fort que chez les pores normaux. De ce double mécanisme (congestion et augmentation de l'hétérohémolysine) résulte la différence observée dans ces extraits de ganglions.

Cette différence était avant tout manifeste dans les essais à incubation rapide au bain-marie. Elle s'amenuisait au fur et à mesure que l'on prolongeait l'incubation. Cette dernière a été poussée jusqu'à 36 heures au réfrigérateur. Cependant, dans ces conditions, le complément est fortement altéré. Il fallait employer de très fortes doses de complément, ce qui avait une action néfaste sur la sensibilité de la réaction. C'est alors que nous avons modifié la technique : au lieu d'incuber pendant une aussi longue période les trois réactifs de la première partie de l'essai (antigène + anticorps + complément) nous mettions au réfrigérateur pendant deux jours seulement l'antigène et l'anticorps. Après ce délai, nous ajoutons le complément pour le laisser réagir pendant quatre heures à $+4^{\circ}$ C.

Le tableau II représente un essai fait avec des extraits tissulaires sélectionnés par un titrage préalable en présence de dilutions décroissantes du complément. Dans ce titrage, les pouvoirs procomplémentaires ou anticomplémentaires étaient à peu près semblables, les différences ne s'écartaient pas de deux solutions successives du complément.

TABLEAU II

complément 1/20	sérum LRS 3+ dil. 1/8.					sérum LRS 7+ dil. 1/16.					témoins antigène + tampon Véronal				
	dilutions de l'antigène														
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
Ggn.més. PoFe I3 (dans de l'eau physiol.)	4	I	tr	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ggn.més. PoFe I3 (dans du tampon phosph.	4	4	3	2	tr	4	3	3	I	tr	I	0	0	0	0
Ggn. més.PoFe I2 (tampon)	4	4	3	3	I	4	4	3	I	tr	tr	0	0	0	0
Ggn. més.PoFe I8 "	4	4	3	2	tr	4	4	2	I	tr	tr	0	0	0	0
Ggn.més. PoFe I6 "	4	4	4	3	2	4	4	3	2	2	2	0	0	0	0
Ggn.més. PoNo K "	4	tr	0	0	0	4	0	0	0	0	tr	0	0	0	0
Ggn.més. PoNo I "	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ggn.més. PoNo M "	4	tr	0	0	0	4	0	0	0	0	I	0	0	0	0
témoin sérum	tr					0									

Les deux premiers antigènes provenaient du même porc, mais étaient préparés dans de l'eau physiologique, d'une part, et dans du tampon phosphaté, d'autre part. Le tampon phosphaté permet d'obtenir des fixations beaucoup plus fortes que l'eau physiologique. Le titrage préalable était indispensable. Le dispositif que nous avons adopté était le suivant :

Antigène 1/10. 0,25 cc.
 Tampon au véronal 0,25 cc.
 Complément de cobaye 1/30, 1/40, 1/50, 1/100. 0,25 cc.
 Incubation 4 h. à + 1° C.
 Couple hémolytique. 0,50 cc.
 Lecture après 30 minutes au bain-marie.

En moyenne, les ganglions normaux donnaient une hémolyse totale jusqu'aux dilutions du complément à 1/40 et 1/50. Des

ganglions pestiques très congestionnés et hémorragiques pouvaient lyser totalement les globules rouges jusqu'à 1/90 et au-delà. Des ganglions non hémorragiques prenaient une position intermédiaire. Plus les titres des extraits pestiques et normaux se rapprochaient, meilleure était la différenciation. Nous n'avons jamais pu obtenir des résultats concluants si la différence entre les deux était de trois dilutions successives du complément.

Nous avons essayé de rapprocher le titre hémolytique des ganglions normaux à celui des ganglions hémorragiques en ajoutant du sérum de porc aux premiers, mais les résultats étaient nuls. Dans ce cas, la fixation dans les deux séries est identique.

Autre règle importante : les préparations antigéniques doivent être fraîches. En général, nos extraits étaient congelés et décongelés deux ou trois fois avant l'emploi. On pouvait utiliser les mêmes préparations pour six ou sept tests, en mettant l'antigène au congélateur après l'usage et en évitant une exposition trop prolongée à la température ambiante. Après six ou sept manipulations, le titre antigénique déclinait rapidement et les fixations devenaient identiques pour les séries positive et négative. En chauffant l'antigène à 56° C. pendant 15 minutes, le pouvoir antigénique était également enlevé.

Le tableau III montre un essai fait avec des sérums de différents lapins. Les sérums LWS 12 et LWS 13 montraient les meilleurs résultats. Ce qui ne ressort pas de ce dispositif, mais qui était évident dans les titrages des sérums seuls avec des dilutions de complément décroissantes, c'est que les deux sérums étaient légèrement plus anticomplémentaires que les trois autres.

Le tableau IV représente les résultats obtenus avec des sérums de quatre lapins inoculés non pas avec des rates provenant de lapins sur lesquels on avait fait des passages du vaccin Rovac, mais qui étaient inoculés directement avec le vaccin lyophilisé. Les sérums étaient mélangés et inactivés selon le procédé Nordberg. Cependant, non chauffés, ces sérums avaient un fort pouvoir anticomplémentaire. Et c'est pour cette raison qu'ils étaient mélangés à parties égales avec du sérum frais de cobaye dilué à 1/2 dans du tampon au véronal. Ensuite, ce mélange était dilué dans une solution salée hypertonique (à 1,5 %) puis après vingt minutes à + 20° C., on ramenait à l'isotonie avec

une solution hypotonique à 0,20 %. La dilution finale était de 1 à 8, le sérum de cobaye étant considéré comme diluant.

TABLEAU III

sérum I/8	antigène PoPe I6					antigène PoNo N					témoin sérum
Dilutions d'Antigène	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	
sérum LWS IO	I	tr	tr	0	0	I	tr	0	0	0	0
sérum LWS II	3	3	2	I	tr	0	0	0	0	0	0
sérum LWS I2	4	4	4	3	2	0	0	0	0	0	0
sérum LWS I3	4	4	4	3	I	tr	0	0	0	0	0
sérum LWS I4	I	I	tr	tr	0	0	0	0	0	0	0
tém. AG.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Pour l'essai, le dispositif des dilutions du complément n'offre guère des avantages. Il met en jeu le constituant le plus actif de la réaction (Camand), ce qui rend la lecture assez malaisée.

TABLEAU IV

antigène I/30		Dilutions du complément									
		$\frac{I}{20}$	$\frac{I}{30}$	$\frac{I}{40}$	$\frac{I}{50}$	$\frac{I}{60}$	$\frac{I}{70}$	$\frac{I}{80}$	$\frac{I}{90}$	$\frac{I}{100}$	
Ggn.Po Pe 22	tampon	0	0	0	0	0	0	tr	I	2	
	au										
Ggn.Po No A2	VERONAL	0	0	0	0	0	0	tr	I	2	
Ggn.Po Pe 22	sérum LES ^{I6} /I9	0	tr	I	2	2	3	3	4	4	
	mélange aa										
Ggn.Po No A2	avec du complé- ment de cobaye	0	0	0	tr	I	2	2	3	4	
	inactivé selon										
tampon au	NORDBERG.	0	0	0	0	0	tr	tr	I	2	
VERONAL	dil. I/8.										
tampon au	tampon au	0	0	0	0	0	0	0	0	tr	
VERONAL	VERONAL										

Quant aux deux souches des virus lapinisés (Rovac et Weybridge), nous n'avons jamais pu constater une différence entre les anticorps qu'elles produisaient. D'ailleurs, les deux virus dérivent de souches originales américaines.

En résumé, nous avons obtenu des fixations du complément par le dispositif des dilutions de sérum et par le dispositif des dilutions de l'antigène. Les facteurs responsables de cette fixation ne se trouvent que dans les organes d'animaux atteints de peste et dans sérums d'animaux hyper-immunisés, mais non dans les organes ou sérums d'animaux normaux.

Seuls les antigène préparés à partir de ganglions lymphatiques de porc *hypertrophiés mais non congestionnés ou hémorragiques*, ont donné satisfaction.

Pour la réaction, *les suspensions antigéniques doivent être fraîches. Leur pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules rouges de mouton doit se rapprocher le plus près possible à celui des suspensions ganglionnaires de porcs normaux utilisés comme témoins.*

Pour la production des sérums spécifiques, deux injections du virus lapinisé à quatre jours d'intervalle sont suffisantes. Leur récolte se fera dix à vingt jours après la dernière injection. Cependant, l'instabilité des sérums de lapin est un obstacle sérieux pour les recherches diagnostiques de routine.

L'incubation au réfrigérateur à -4° C. pendant 48 heures de l'antigène et du sérum, avant l'addition du complément, semble être indispensable.

VII. — Les sérums de cobaye.

Il est évident qu'une méthode offrant tant de facteurs variables n'a qu'une utilité pratique limitée et où les causes d'erreur sont multiples. Les chercheurs qui se sont intéressés à la fixation du complément dans les maladies à virus ont souvent constaté que les sérums de lapins sont souvent défailants (Imig, Bedson, Bland, Bedson). Citons simplement l'opinion de Lépine et Sohier au sujet du diagnostic sérologique des maladies à virus par la méthode de fixation du complément.

« Dans le choix de l'animal on doit tenir compte d'un facteur non négligeable : le pouvoir anticomplémentaire éventuel des sérums. Il est fréquemment observé avec les sérums de lapins qui, pour cette raison, ne sont employés que lorsqu'il n'est pas possible d'obtenir des anticorps chez d'autres animaux. Par contre, le cobaye est à ce point de vue, comme d'ailleurs en tant que producteur d'alexine, un animal d'emploi commode et peu onéreux. »

Suivant cette suggestion, nous avons effectué une série d'essais avec des sérums de cobaye. Deux lots à 5 animaux étaient inoculés par voie intracardiaque. Chaque animal recevait deux injections de 4 doses vaccinales pour pores du vaccin Rovac du commerce à 4 jours d'intervalle. La saignée fut faite quinze jours après la dernière inoculation. Les sérums récoltés sont mélangés par lots et examinés comme les sérums de lapin.

La tentative d'opposer un sérum négatif aux sérums positifs n'a pas réussi. Le sérum négatif utilisé à cet effet était représenté par le sérum de cobaye lyophilisé des Laboratoires Cellai de Milan. Ce sérum était plus anticomplémentaire que les sérums que nous avons obtenus de nos cobayes immunisés.

Egalement sans succès restèrent les essais avec des antigènes positifs et négatifs (dans le dispositif des dilutions d'antigène). L'hémolyse était toujours identique pour les deux séries. A en juger de ces quelques essais, le cobaye ne produit pas d'anticorps fixateurs du complément.

TROISIEME PARTIE

L'HETEROHEMOLYSINE ANTIMOUTON DU SERUM PORCIN

Dès l'introduction de la réaction de fixation du complément dans la pratique médicale, on s'est aperçu que les sérums de certains syphilitiques authentiques donnaient des réactions négatives (Meier, Wassermann, Neisser, Bruck et Schucht). Sachs et Altmann (1908) attribuaient la cause de ce phénomène à une hétérohémolysine antimouton qui dans certains sérums humains seraient particulièrement élevée (Meier, 1902), (Michaelis, 1907). Selon Jacobsen (1910), ces hétérohémolysines naturelles agiraient avec les ambocepteurs spécifiques de la réaction en produisant une hémolyse accélérée et contrecarrent ainsi l'action inhibitrice des anticorps syphilitiques, une thèse qui a été soutenue également par Bauer [4] et Hecht [40]. Il est hors du cadre de ce travail de citer les très nombreuses publications au sujet de l'action des hétérohémolysines dans la réaction de Bordet-Wassermann (Stern, 1913 ; V. Gierkl, 1913 ; Zallozicki, 1913 ; Jolowicz, 1913 ; O. Rossi, 1914 ; Bettencourt, 1915 ; Fukushima, 1923 ; Schwarz, 1924 ; Semenitz, 1954, etc.) ; mais, si nous citons ceci, c'est pour insister sur l'étroite analogie du mécanisme des sérums humains hémolytiques et des sérums d'autres espèces animales doués également d'un pouvoir lytique pour les hématies du mouton. Or, le sérum de porc est normalement doué d'un fort pouvoir hémolytique antimouton et très probablement de ce fait, il s'oppose à l'emploi dans les réactions hémolytiques du type de la fixation du complément classique. (Manninger [63], Rice et Mc Kercher [62]). Au cours de notre expérimentation, nous avons pu vérifier cette conception : plus il y avait d'hémolysine dans nos extraits antigéniques, moins les réactions spécifiques étaient nettes.

Tout le problème réside donc dans cette particularité fonctionnelle des sérums, et il nous a paru intéressant de rassembler les notions éparpillées dans la littérature et d'exposer ici les différentes observations des recherches précédentes et de quelques expériences complémentaires que nous avons faites.

La première mention de cette hétérohémolysine que nous pouvions trouver date de 1875. Landois [61], dans ses études sur la transfusion sanguine, constate que le sérum de porc est capable de lyser totalement les hématies du mouton et du cobaye en deux heures, tandis que les hématies du lapin et de l'homme résistent pendant huit à neuf heures, et que celles du veau sont complètement insensibles.

Gurber [29] par contre trouve dans les sérums de porc des hémolysines pour les globules rouges du lapin et du cheval, mais pas d'action sur les hématies de l'homme, du bœuf et du mouton.

Pour Römer, Hess et Römer [87, 12] et Rissling [85], la sensibilité érythrocytaire vis-à-vis du sérum porcin va en décroissant du mouton (concentration lytique minima du sérum 0,05 à 0,2 cc.) au cobaye (0,3 cc.), au lapin (0,3 à 0,5 cc.), au cheval (0,3 cc.), au bœuf (0,5 cc.) et à l'homme (0,5 cc.).

H.-R. Marks [61] et E. Fraenkel [23, 24] étudient les différentes fractions protéiques sur leurs pouvoirs hémolytique et complémentaire. Pour Marks, l'hétérohémolysine est précipitée avec la fraction globulinique lors du fractionnement par l'acide chlorhydrique. En général, dans ses expériences, le sérum de porc montrait une activité plus intense sans ambocepteur immun qu'avec ce dernier. Mais l'hémolyse en présence de l'ambocepteur immun peut se manifester encore faiblement avec des dilutions plus fortes de sérums de porc. Il employait 10 unités hémolytiques de l'ambocepteur immun, ainsi nous attribuons ce phénomène à la très forte dose de sérum de lapin qui est — comme on sait — doué d'un pouvoir inhibiteur du complément notable dans les réactions hémolytiques. Ce sérum de lapin étant absent dans ses titrages sans ambocepteur, l'hétérohémolysine du porc pouvait déployer tout son pouvoir lytique, et hémolysait plus tôt que les réactions renfermant l'ambocepteur.

Marks [61] fut probablement le premier à démontrer que le sérum de porc augmente l'hémolyse dans les réactions sérologiques et il insiste sur la possibilité d'erreurs produites par des

hémolysines naturelles des sérums dans des réactions à hémolyse utilisant des globules rouges du mouton.

E. Fraenkel [24], par contre, n'attribue pas une telle importance à cette hémolyse. Dans une étude comparative, il étudie l'effet sur le système hémolytique :

- 1° du sérum de porc frais sans complément de cobaye ;
- 2° du sérum de porc frais avec du complément de cobaye ;
- 3° du sérum de porc frais avec de l'ambocepteur de lapin ;
- 4° les fractions albuminique (Endstueck) et globuline (Mittelstueck) obtenues selon la méthode de Liefmann par le CO₂, et leur comportement avec les mêmes fractions du complément du cobaye.

Il constate que :

1° Le fractionnement par le CO₂ diminue la force complémentaire du sérum de porc, il n'obtient pas l'hémolyse complète avec la double dose (par rapport au sérum d'origine) des deux fractions réunies.

2° La fraction albuminique de porc plus la fraction globulinique de cobaye ne produisent pas d'hémolyse, tandis que la fraction globulinique de porc plus la fraction albuminique de cobaye est apparemment plus hémolytique que le sérum de porc d'origine.

3° La fraction albuminique inhibe le système hémolytique (ambocepteur de lapin + complément de cobaye).

4° Les globulines, par contre, favorisent cette hémolyse mais non plus que le sérum de porc non fractionné, bien que la substance albumine inhibitrice ait été enlevée.

Pour Fraenkel, l'hémolysine naturelle n'est pas responsable de cette action procomplémentaire, pour des raisons quantitatives, car la dose de 0,05 cc. de la fraction globuline capable de produire l'hémolyse avec 1/5^e de la dose minima hémolytique du complément, ne correspondait au titrage même pas à une unité hémolytique d'ambocepteur. Egalement, l'augmentation de l'ambocepteur à la double ou triple dose hémolytique ne donnait même pas approximativement un renforcement analogue du complément.

Fraenkel démontre également que cette substance est ther-

mostable à 57°/30 min. Si le sérum de porc normal avait perdu, par le chauffage, une grande partie ou tout de son pouvoir pro-complémentaire, la fraction globuline n'était atteinte que beaucoup plus faiblement dans cette activité ! mais le chauffage à 70°/30 min. enlevait également aux globulines de leur activité favorisante pour le complément.

La fraction albumine perdait aussi son activité anticomplémentaire par l'inactivation à 57° et 70°.

Mais, fait curieux, les globulines de porc chauffées à 57°/30 min. sont aussi capables, bien qu'à un taux plus faible, de lyser avec la seule fraction albumine du cobaye, ce qui ne se produit pas avec les globulines du cobaye. Le cholestérol inhibe la fraction globulinique du cobaye et du mouton mais non celle du porc. Les globulines du cobaye conservées 24 heures dans de l'eau physiologique requièrent une incubation de 30 min., avant l'addition des albumines du cobaye, tandis que les globulines du porc ainsi traitées sont capables de lyser immédiatement après l'addition de la fraction albuminique du cobaye.

Fraenkel arrive à la conclusion qu'une autre substance de la fraction globuline est responsable de l'effet procomplémentaire que Sachs (Hdb. Path. Microorg. [89]) suppose être le troisième composant du complément, dont le taux est particulièrement élevé chez le porc (W. Jonas [48]).

La même idée a été reprise par Manninger [63] et plus récemment par Bankowski [5].

La publication de Fraenkel, bien que richement illustrée par des tableaux, n'est pas très claire dans tous les points. En particulier, il n'indique pas s'il travaillait avec un seul sérum de porc ou plusieurs, et de quelle manière le sérum a été conservé. Pour deux essais, la date était indiquée, montrant qu'ils étaient faits à 15 jours d'intervalle. Ce détail est important, comme nous le démontrerons plus loin. Mais ce qui ressort nettement de ses constatations, c'est que l'effet procomplémentaire était toujours produit par les fractions sériques qui se montraient en même temps hémolytiques pour les hématies de mouton non sensibilisées.

C'était Manninger [63] qui faisait la première étude comparative de l'hémolysine chez plusieurs sujets. Nous avons repris ses expériences et avons pu vérifier leur exactitude.

Pour simplifier l'exposé, nous énumérons les différentes propriétés de l'hémolysine observées par Manninger et par nous.

Notre dispositif d'essai est le suivant :

- Sérum de porc en dilutions doublantes 1/1, 1/2,
1/4....., 1/512. 0,5 cc.
- Suspensions d'hématies 1 %..... 0,5 cc.

ou

- Sérum de porc 1/1 à 1/1024..... 0,5 cc.
- Suspensions d'hématies 2 %..... 0,25 cc.
- Dilution du complément de cobaye (1/10 ou 1/20) 0,25 cc.

L'étude est faite sur quinze sérums de porcs normaux, deux sérums de porcs inoculés de peste et abattus à la phase culminante de la montée thermique, ainsi qu'un porc inoculé avec du matériel virulent capable de produire une pneumonie virale, abattu au même moment que les deux porcs à peste. Dans tous les sérums était ajouté du méthiolate à 1/10.000^e pour empêcher la croissance des bactéries saprophytes.

Les sérums normaux sont récoltés le jour même du premier essai, les sérums pathologiques étaient conservés à — 20°, pendant deux mois ou trois semaines. A partir du premier essai, tous les sérums sont soumis aux mêmes manipulations et exposés aux mêmes conditions extérieures.

Nos constatations sont :

1° Le sérum frais mis en contact avec une suspension d'hématies de mouton sensibilisées par un ambocepteur (3 DMH) de lapin, lyse totalement les hématies jusqu'à la dilution 1/64. La lyse commence après deux à cinq minutes, elle est complète après dix minutes. Il n'y avait pas de différence entre les sérums normaux et pathologiques.

R. Mille [67] obtient des valeurs plus faibles (1/10 à 1/20).

Il semble donc que la valeur complémentaire est assez constante chez les différents individus.

2° Les mêmes sérums, mis en contact avec des hématies non sensibilisées lysent à un taux très légèrement inférieur. Manning, opérant sur plus de trente sérums de porc, indique un titre hémolytique de 0,1 cc. (ou dil. 1/50) pour les sérums de porc, et il constate également la constance des résultats avec des sérums de différents individus.

3° Chauffés à 56°/30 min., les sérums ne lysent plus ni les hématies sensibilisées ni les hématies non sensibilisées. En présence de 0,25 cc. de complément de cobaye 1/10, l'hémolyse se manifeste de nouveau, mais non seulement elle réapparaît, mais elle est pour 90 % des sérums plus forte qu'avec ces sérums non chauffés et sans complément de cobaye. L'addition de sérum de cobaye inactivé à 56°/30 min. aux mêmes proportions, à la place du complément de cobaye, ne peut plus réactiver le pouvoir hémolytique du sérum de porc.

Ainsi est démontré que l'hémolysine est thermostable à 56°/30 min., et c'est une ou plusieurs fonctions du complément de cobaye qui sont plus actives que dans les sérums de porc.

Effet du chauffage sur l'activité hémolytique

d'un sérum normal et d'un sérum pesteux.

		s é r u m P o N o I 2									s é r u m P o P e I 6										
		d i l u t i o n s d e s s é r u m s																			
		I 2	I 4	I 8	I 16	I 32	I 64	I 128	I 256	I 2	I 4	I 8	I 16	I 32	I 64	I 128	I 256				
sérums fraie		sans complé- ment		0 0 0 0 0 0 I 4 4									0 0 0 0 0 0 tr 4 4								
sérums	56°/30'			4 4 4 4 4 4 4 4 4									4 4 4 4 4 4 4 4 4								
chauffées à	56°/30'	+ 0,25cc de complément de cobaye à 1/10	4 I 0 2 4 4 4 4 4									0 0 0 0 0 0 0 I 2									
	56°/60'		4 4 4 4 4 4 4 4 4									0 0 0 0 0 0 0 3 4									
	60°/15'		4 4 4 4 4 4 4 4 4									0 0 0 0 0 0 0 3 4									
	37°/18 ^h		0 0 0 0 0 0 2 4 4									0 0 0 0 0 0 tr 4 4									
	56°/10 ^h		4 4 4 4 4 4 4 4 4									0 0 0 0 0 tr 3 4 4									

Selon Cushing jr. [14], dans le fractionnement par le CO₂, on obtient dans le précipité surtout C' 1 et C' 3, dans le surnageant se trouvent les fractions C' 2 et C' 4. D'autre part, nous savons depuis Braun, Marks et Fraenkel, que c'est avant tout la partie restée en solution qui exerce son action réactivante, c'est-à-dire C' 2 et C' 4. Or, Hegedus et Greiner constatent que C' 2 est chez le porc quatre fois plus actif que chez le cobaye, tandis que C' 4 chez le cobaye dépasse la même fonction du porc de 250 fois. Pour Rice et Crowson [83], C' 2 du cobaye est six fois plus actif que chez le porc, tandis que C' 4 n'est que 85 fois plus actif chez le cobaye que chez le porc. Certes, la séparation des fractions n'est jamais absolue. Cependant, il semble que C' 4 joue ici un rôle non négligeable, mais toujours

en concours avec des parties thermolabiles représentées dans ces fractions.

Nous n'avons pas trouvé de travaux examinant la combinaison sédiment globuline de porc + sédiment globuline de cobaye.

Par l'inactivation des sérums de porc, on constate que le taux hémolytique de différents sérums de porcs est extrêmement variable ou, plutôt, que la thermorésistance des hémolysines varie avec les différents sujets. On n'observe plus la même homogénéité comme chez les sérums frais. En même temps se développe un pouvoir anticomplémentaire également très variable, se manifestant aux dilutions 1/2, 1/4 et quelquefois 1/8.

Au cours de cette expérimentation, nous avons fait une observation assez intéressante : *le pouvoir hémolytique des deux sérums des porcs à peste dépassait de loin la plupart des sérums normaux*. L'augmentation du pouvoir hémolytique atteignait un titre triple par rapport à celui des sérums normaux. Elle n'était pas manifeste avec le sérum du porc à pneumonie qui, pourtant, était abattu également avec une hyperthermie de 11° C., ce qui indique que la fièvre ne peut être responsable de cette exaltation. Un seul sérum normal se rapprochait du titre des sérums pestiques, mais ne les atteignait pas ; surtout si l'on employait des dilutions du complément au lieu des dilutions du sérum, ce sérum normal était moins hémolytique que les deux sérums à peste. Ce qui frappait surtout, c'était l'extrême vitesse avec laquelle les sérums pestiques hémolysaient les globules du mouton. Dans un essai, c'étaient toujours les sérums pestiques qui hémolysaient les premiers (après 3 min. au moins), les sérums normaux commençaient à lyser une à deux minutes plus tard. Enfin, dans les sérums pestiques, l'hémolyse n'était jamais inhibée aux fortes concentrations comme les sérums normaux. La lyse des sérums pestiques débutait simultanément aux dilutions 1/2 - 1/8 puis progressait vers les dilutions plus faibles. Les sérums normaux lysaient d'abord aux dilutions 1/4 - 1/8 puis l'hémolyse se propageait vers les dilutions plus faibles et les dilutions plus fortes, à moins que l'inhibition ne fût permanente pour ces dernières.

Manninger, utilisant des hématies sensibilisées, constate que, pour les sérums chauffés à 55°, l'hémolyse commence aux dilutions les plus fortes (1/5) et les plus faibles puis avance des deux côté vers le milieu, pour finir par une hémolyse complète

dans tous les tubes. La différence est probablement due à la sensibilisation des hématies et parce qu'il employait comme plus forte concentration $1/5$ et nous $1/2$.

4° L'hémolyse se perd par vieillissement des sérums de porc. Cette destruction est fonction du degré hémolytique initial des sérums. Elle s'exerce dans les meilleures conditions à la température du réfrigérateur (0° à $+ 4^{\circ}$ C.). La conservation à l'état congelé n'a que très peu d'effet dans ce sens. Plus l'hémolyse est faible, plus la réduction se fait sentir. Déjà une conservation de 15 heures au réfrigérateur réduisait de moitié le titre hémolytique pour beaucoup de sérums normaux. Après 8 jours, cinq de nos vingt sérums n'étaient plus hémolytiques en présence de 0,25 cc. de complément de cobaye à $1/10$. Huit autres pouvaient encore lyser totalement aux dilutions $1/4$ à $1/16$, les autres sérums normaux n'avaient perdu que $1/4$ à $1/15$ de leur activité.

Après un mois, seulement les sérums pestiques et le sérum normal fortement hémolytique pouvaient lyser totalement jusqu'à $1/8$, trois autres produisaient encore une hémolyse partielle à $1/4$ et $1/8$, tous les autres étaient inactifs.

Après trois mois, tous les sérums avaient perdu leur activité hémolytique. Ces sérums montraient alors un sédiment blanc très fin au fond des flacons. Ils se montraient stériles à l'examen bactériologique.

5° L'hémolysine du sérum de porc se laisse absorber sur les globules rouges du mouton. Cette absorption s'opère dans les meilleures conditions à 0° C. Il est possible de le faire avec des sérums frais et des sérums inactivés. En utilisant les sérums frais, il importe de les réfrigérer avant l'addition des hématies pour réduire l'hémolyse au minimum. De la supprimer complètement n'est pas possible : ou bien une partie des hématies se décompose au moment de la centrifugation, comme le constate déjà O. Hall [3], ou bien, si on laisse les globules se déposer au réfrigérateur, il se forme une zone d'hémoglobine au-dessus du dépôt globulaire. En inactivant les sérums, cet inconvénient est éliminé, mais l'absorption est moins rapide et plus difficile à obtenir. Nous avons utilisé la proportion de 0,1 cc. de dépôt de centrifugation de globules de mouton du troisième lavage pour 1 cc. de sérum de porc. Deux tiers des sérums normaux

frais étaient inactivés après une heure. Après deux heures, 90 % des sérums normaux étaient inactivés, pour les autres, parmi lesquels se trouvaient les sérums pestiques et pneumoniques, l'inactivation n'était complète qu'après 24 heures. Pour les sérums pestiques inactivés, il fallait 48 heures (c'est-à-dire jusqu'à sédimentation spontanée) pour enlever complètement le pouvoir hémolytique.

La même expérience a été faite par O. Bail, en 1914, avec le même résultat. Bail constate en outre qu'on peut éluer l'hémolysine des hématies de mouton dans de l'eau physiologique. Cet éluat est uniquement hémolytique pour les hématies de mouton, et seulement en présence de complément. Il ne serait pas possible d'éluer l'hémolysine dans le sérum de porc.

Selon Boulanger (1954) (cité par Rice et Mac Kercher [82]), l'absorption de l'hémolysine ne peut pas enlever le pouvoir procomplémentaire des sérums du porc.

6° Manninger (1923) constatait que le sérum défibriné obtenu par agitation ne montrait le plus souvent que la moitié du titre hémolytique du sérum exsudé lors de la coagulation naturelle.

Résumé.

Le sérum du porc contient une hétérohémolysine anti-mouton très active, constituée par une globuline, thermostable et absorbable sur des hématies de mouton.

Pour exercer son effet hémolytique, elle requiert le concours du complément.

Cette activité hémolytique est diminuée par l'agitation des sérums et elle est détruite au cours du vieillissement.

Dans les sérums de porcs atteints de peste, le pouvoir hémolytique est notablement augmenté dès la phase d'invasion de la maladie.

HEMOLYSINE, POUVOIR PROCOMPLEMENTAIRE ET TROISIEME COMPOSANT DU COMPLEMENT

Très souvent, la question a été posée de savoir quel serait le rapport entre ces trois substances, sans qu'une réponse univoque ait pu être donnée. Il est certain que ces trois substances doivent avoir une base commune, car elles possèdent un certain nombre de propriétés identiques.

Marks [64] avait déjà attiré l'attention sur les possibilités d'erreur résultant de cette analogie physico-chimique. Ainsi on doit se demander : est-ce que le sérum de porc est hémolytique parce qu'il est riche en C'3, ou est-ce que C'3 est si important chez le porc parce que la même fraction sérique renferme aussi l'hémolysine ?

En effet, les premiers travaux sur la teneur en C'3 du sérum porcin négligent complètement la présence de l'hémolysine dans le dispositif d'essai. Jonas [48], le premiers de ces chercheurs, utilise le dispositif suivant :

Suspension de globules rouges sensibilisées : 1 cc.

+ Sérum de cobaye traité par le venin de cobra : 0,1 à 0,2 cc.

+ Sérum de porc inactivé : dilutions décroissantes.

Or, en ajoutant du sérum de porc inactivé, il ajoute en même temps de l'hémolysine qui augmente la sensibilisation des hématies de mouton. Il observe donc une hémolyse plus forte et à des doses de sérum plus petites qu'avec un sérum d'une autre espèce animale dépourvue d'hémolysine naturelle, comme par exemple, le sérum de cobaye ou du cheval. Le même dispositif était employé par Misawa [8] et par Hegedus et Greiner [38]. Il n'est pas surprenant que ces auteurs trouvent des valeurs astronomiques de C'3 de 1/12.000, voire même 1/40.000.

En effet, les travaux plus récents de Rice et Crowson [82],

dans lesquels il est tenu compte des hémolysines naturelles en employant non pas des hématies sensibilisées avec 3DMH d'ambocepteur, mais des érythrocytes sensibilisées maximalement suivant la technique indiquée par Wadsworth [103], les valeurs de C'3 sont beaucoup plus inférieures (1/3.670) que celles des premiers chercheurs.

Pourtant, les deux fonctions du sérum possèdent certaines propriétés communes :

1° Ce sont des globulines, et probablement des symplexes lipido-globulines, car elles se retrouvent dans la partie précipitée lors du fractionnement des protéines sériques et sont sensibles aux solvants des lipides.

2° Les deux sont sensibles à l'agitation (Jacoby et Schuetze [50], Manninger [63]).

3° Ils sont détruits par vieillissement (Liefmann cité par Sachs [89], Hecht [40], Gordon et Hoyle [27] et propres observations).

Mais ce qui les différencie, c'est leur thermo-résistance. L'hémolysine peut être chauffée à 61°/30 min., et ne perd qu'une partie de son activité. Selon Rice et Crowson, le chauffage à 56°/30 min. enlevait presque complètement la fonction C'3 des sérums de pores, de sorte qu'ils ne chauffaient ces sérums pour les recherches qu'à 50° C., pour détruire les fractions thermostables du complément.

En conséquence, on doit conclure que l'hémolysine et C'3 sont des substances de constitution très proche mais non identiques.

Est-ce que le pouvoir procomplémentaire est dû à l'hémolysine ou au troisième composant du complément ? Pour Fraenkel, l'hémolysine n'est pas responsable du pouvoir procomplémentaire, car les proportions quantitatives ne correspondaient pas à l'activité de ces deux fonctions dans les essais. Egalement, Sachs, Manninger, Bankowski et coll. et Rice, Mc Kercher et Boulanger voient plutôt en C'3 la cause principale du pouvoir procomplémentaire.

Nous croyons, cependant, que l'hémolysine et pouvoir procomplémentaire sont deux manifestations d'une même substance, car,

1° les sérums les plus hémolytiques possèdent en général aussi le pouvoir procomplémentaire le plus élevé ;

2° le pouvoir procomplémentaire se manifeste encore avec les sérums chauffés à 64°/30 min. qui sont toujours hémolytiques mais où, selon Rice et Crowson, C'3 est notablement diminué. Les travaux de Rice, Mc Kercher et Boulanger n'apportent pas non plus une solution définitive à cette question. Ils essayèrent d'éliminer l'hémolysine par triple absorption sur des hématies de mouton, d'une part, et d'inactiver C'3 par le zymosan, d'autre part. Ni l'une ni l'autre méthode ne pouvait éliminer le pouvoir procomplémentaire totalement, mais l'inactivation par le zymosan était plus efficace que l'absorption sur hématies de mouton. Ils mentionnent également que le sérum traité par le zymosan restituait l'activité hémolytique d'un sérum de cobaye inactivé également par le zymosan. On ne pouvait pas déterminer si C'3 était incomplètement détruit ni si un autre facteur hémolytique résiduel était présent. Mais ces auteurs n'indiquent pas si l'hémolysine était complètement inhibée par l'absorption sur les globules rouges du mouton. En outre, il faut se demander dans quelle mesure le zymosan peut affecter l'hémolysine en même temps de la fonction C'3. Certes, ils employaient, pour les titrages, des hématies maximale-ment sensibilisées, ce qui élimine en partie l'action sur le couple hémolytique mais ne doit pas nécessairement enlever le potentiel procomplémentaire de l'hémolyse.

Ainsi, nous croyons que le pouvoir hémolytique et le pouvoir procomplémentaire des sérums porcins sont plutôt deux fonctions d'un même substrat. Le pouvoir hémolytique requiert une concentration plus forte pour qu'il se manifeste dans les essais. Mais au-delà de la concentration minimum hémolytique, cette substance est capable d'exercer l'effet procomplémentaire sur des hématies sensibilisées et d'empêcher en même temps la fixation du complément par des complexes antigènes-anticorps *in vitro*.

Signalons, à titre accessoire, que l'extraction par l'éther diminue le pouvoir procomplémentaire et rend les sérums porcins anticomplémentaires. Ceci permet de déduire qu'il s'agit ici également d'une substance de nature lipidique ou lipoprotéique (Boulanger, Rice et Mc Kercher). Un autre argument en faveur de notre conception nous est fourni par Prunell et Prunell et Galmès [77, 78]. Chez des syphilitiques paralytiques, la réaction de Wassermann est positive si le taux des protéines est

normal ou légèrement augmenté, l'augmentation étant proportionnelle pour la sérine et la globuline. Cependant si la réaction de ces malades est négative, on constate le plus souvent une hyperglobulinémie de 5,5 à 6,5 %. A côté de la perte de son pouvoir spécifique, ce sérum négatif a encore acquis un pouvoir lysant accentué supérieur au pouvoir lysant naturel du sérum normal. Il serait intéressant à savoir comment se comporte un tel sérum syphilitique négatif dans des titrages de fixation de complément avec des systèmes éprouvés et si la teneur en C'3 montre des variations proportionnelles.

Résumé :

La question du rapport entre hémolysine, pouvoir procomplémentaire et composant C'3 du complément, reste toujours ouverte. L'étroite analogie du comportement de ces trois substances vis-à-vis des agents physiques et chimiques permet de leur attribuer une constitution de base commune. Mais, si la fonction C'3 du complément et l'hémolysine anti-mouton se distinguent par leur résistance au chauffage, pour cette même raison l'activité procomplémentaire se rapproche plutôt au pouvoir hémolytique, car elle persiste encore dans des sérums chauffés à des températures bien au-delà des limites de résistance de la fonction C'3 du complément.

HEMOLYSINE ET PESTE PORCINE

Pourquoi l'hémolysine est-elle augmentée dans la peste du porc ? Deux hypothèses peuvent expliquer ce mécanisme :

1° Le virus pestique — essentiellement pathogène pour le système réticulo-endothélial qui, comme on sait, est la source principale des anticorps — stimule la production de cette fraction sérique. Il est constant d'observer dans la peste aiguë une leucopénie initiale très marquée (Lewis et Shope [43], Sarnowick [92], Uhlenhuth et coll. [100]. Le taux leucocytaire tombe de 14.000-24.000/mm³ à 4.000/mm³ et moins. Aucune des autres maladies courantes du porc ne montre cette manifestation (Hagan et Bruner [43]). Ainsi, on pourrait admettre que le virus s'attaque aux leucocytes, les détruit et libère les enzymes leucocytiques qu'ils contenaient. Mais le virus s'attaque-t-il vraiment aux leucocytes ? S'il en était ainsi, on devrait le déceler avant tout avec ces éléments. Or, le virus ne se retrouve pas à des quantités infiniment petites dans la partie leucocytaire de dépôt des cellules sanguines. Celle-ci se montrait presque dénuée de tout pouvoir important, tandis que les érythrocytes peuvent absorber presque complètement le virus contenu dans le sérum sanguin (W. Rucks et C. Murray [107]).

2° L'autre hypothèse est la suivante : le virus pestique ne s'attaque pas directement aux éléments cellulaires, mais il agit par l'intermédiaire de sa constitution chimique. En 1910, E. Weineck [104, 105] étudiait la nature chimique de la vaccine et de la peste aviaire. Partant de la considération que ces virus ne sont dénaturés ni par les ferments hyorolysants ni par des agents protéolytiques, il déduit qu'il ne peut s'agir de molécules protéiques pures. D'autre part, ces virus sont liés à des globulines et sont ainsi précipitables et fractionnables des solutions colloïdales faiblement salées à l'aide de (NH₂)₂SO₄. Cette liaison apparaît encore plus nettement dans les titrages en série, où la fraction globulinique montre un titre virulent élevé de

2^o par rapport à la solution virulente initiale. Trouvant dans l'embryon de poulet un matériel d'essai peu coûteux et facile à manipuler, il lui est possible de démontrer que la virulence garde tout son pouvoir même si toute protéine est digérée, tandis que les solvants des lipides (alcool-éther, chloroforme, benzol) le détruisent complètement. Ainsi, — selon lui — ces virus sont des symplexes lipido-protéiques, dont le lipide constitue la partie active. La protéine seule n'est ni infectante ni immunisante.

Pour le virus de la peste porcine, une étude analogue n'a pas encore été faite. Selon Kœves, v. Hegyeli et v. Bozsy [56], il est précipité en grande partie par le sulfate d'ammonium à 30 %, mais la partie en solution renferme encore dans quelques cas du virus capable d'infecter des animaux réceptifs. D'une manière générale, il semble que le sérum porcin est difficilement fractionnable et que ceci est une particularité de cette espèce. E. Fraenkel [24], pour l'hémolysine, constatait également que, dans quelques cas, le surnageant albuminique renfermait de l'hémolysine, et Jonas [48] constatait que, à l'encontre du sérum de cobaye, la fraction albuminique du porc peut aussi exercer la fonction C'3, ce qui, pour les autres espèces, est réservé exclusivement à la fraction globulinique.

Quant à l'action des solvants des lipides, nous n'avons pas pu trouver des indications précises. S'il se vérifie que le virus de la peste du porc possède une structure semblable à celle du virus de la peste aviaire, nous pouvons également rapprocher le virus et l'hémolysine par leur constitution chimique et peut-être aussi dans quelques particularités fonctionnelles. Pour les deux, le lipide serait la partie active. D'ailleurs, Morgan, Enders et Wagley [70] n'ont-ils pas trouvé une hémolysine anti-mouton associée aux virus des oreillons cultivés dans l'œuf embryonné ?

En conséquence, de cette hypothèse, on pourrait admettre que le virus en se développant dans l'organisme augmente le titre global des lipides hémolytiquement actifs d'où résulte l'élévation du titre hémolytique du sérum pesteux.

A l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de se prononcer pour l'une ou l'autre de ces deux hypothèses. Mais il est certain que l'hémolysine est augmentée dans la peste. Il faut également se demander si cette modification humorale n'a pas

de signification particulière dans la pathogénie de la peste porcine. Ainsi, la leucopénie ne peut-elle pas résulter d'une leucolyse à la suite de cette modification humorale, et n'est-ce pas une cause de l'affaiblissement de la défense de l'organisme vis-à-vis des germes d'infections secondaires ? Les granulations leucocytaires observées par Glaesser, Uhlenhuth, Miessner, Geiger seraient alors plutôt des formes d'altération non spécifique que des inclusions virales, surtout, que les leucocytes sont peu ou pas infectants pour le porc réceptif. On sait, depuis les travaux de Robineaux [86], que les leucocytes ne peuvent exercer leur fonction défensive que dans un milieu bien déterminé et équilibré et en présence du complément sérique. On connaît bien l'action défavorable de l'hémolysine staphylococcique sur les phagocytes et que la perte du pouvoir hémolytique entraîne aussi une perte de la virulence. Certes, l'hémolysine du porc et l'hémolysine staphylococcique sont de constitution différente, mais peuvent bien avoir une certaine analogie d'action : les staphylocoques créent dans leur foyer un milieu localisé défavorable aux leucocytes, tandis que dans la peste le phénomène est généralisé pour tout l'organisme, amenant un effondrement total de la défense anti-infectieuse et permettant aux saprophytes tenus en échec jusqu'alors d'invader le terrain et de créer les phénomènes secondaires du tableau clinique.

Dans les réactions *in vitro*, il semble — selon Boulanger, Rice et Mc Kercher [82] — que la substance s'opposant à la réaction de fixation de complément n'exerce son action non en faussant le système hémolytique révélateur, mais plutôt en empêchant la fixation du complément du complexe antigène-anticorps. Car si l'on ajoute le sérum de porc à un système fixateur du complément éprouvé (brucella et antisérum), l'inhibition de la réaction est plus manifeste si l'on ajoute le sérum porcin au début de la période de fixation qu'à la fin de celle-ci. Comme la réaction antigène-anticorps est empêchée *in vitro*, elle le pouvait aussi bien être *in vivo*.

L'hyperhémolyse du sérum pesteux s'attaque cependant, non seulement aux leucocytes mais aussi aux érythrocytes du porc. Nous savons déjà que le virus est absorbé largement par les globules rouges. Il a été observé que dans la peste aiguë une anémie nette peut apparaître qui, ensuite, est compensée et peut même être suivie de hyper-érythrocytose. (Cité par Uhlen-

huth, Miessner et Geiger [100]). Frendzel et Szymanowski [25] ont constaté que les sérums de porcs immunisés par la méthode de la vaccination simultanée possèdent un pouvoir hémolytique élevé pour les globules rouges de mouton et en même temps ils manifestent un pouvoir iso-agglutinant augmenté pour les globules rouges du porc (titre du sérum anti-pestique 1/64 et plus, du sérum normal 1/4), mais qu'ils ne sont jamais auto-agglutinant, c'est-à-dire n'agglutinant pas les hématies de l'animal fournisseur du sérum. En outre, ces sérums anti-pestiques sont doués d'un pouvoir hémolytique net envers des hématies de porc. Ce phénomène ne survient presque jamais avec des sérums normaux. Le sérum inactivé par le chauffage à 56° C./30 min. a perdu ce pouvoir lytique, mais il le récupère en présence de complément de cobaye.

Tout récemment, Goodwin, Saison et Coobs [112] ont redécrit le phénomène de l'iso-agglutination des sérums antipestiques de porc. Selon ces auteurs, la vaccination des truies par le vaccin au crystal-violet pourrait stimuler la formation d'iso-anticorps agglutinants et hémolytiques qui par incompatibilité des groupes sanguins pourraient être à l'origine de certains syndromes hémolytiques observés chez des porcelets à la mamelle.

Quand on trouve dans la littérature des cas de syndromes hémolytiques et hémorragiques avec augmentation de la globulinémie (Wuhrmann [108]), ne serait-on pas tenté de chercher une corrélation entre ces cas cliniques et la peste du porc ? Les pétéchies et hémorragies si caractéristiques de la peste pourraient bien résulter d'un mécanisme humoral. Au début de l'infection pesteuse, il se produit une élévation brusque de cette fraction globulinique produisant des hémato-agglutinations intravasculaires. Les agglutinats forment des micro-emboles et des micro-thromboses, dans les capillaires qui, obstrués, donnent lieu à des infarctus ou, s'ils cèdent, à des pétéchies hémorragiques. Il est très fréquent de voir chez des porcs atteints de peste des taches cutanées violacées aux parties déclives du corps, d'une couleur pareille à celle des taches hypostatiques du cadavre de porc. On pourrait également attribuer ce phénomène à l'hémagglutination *in vivo* : les agrégats érythrocytaires par leur pesanteur sont charriés jusqu'aux régions capillaires des parties inférieures du corps, mais le courant sanguin étant

trop faible ne pourrait plus les remonter, de sorte qu'il y a sédimentation des globules agglutinées donnant à la peau la couleur violacée caractéristique.

Notre hypothèse permet d'expliquer encore d'autres aspects de la peste porcine. Comme pour toute maladie infectieuse, la réussite d'une infection artificielle de peste requiert : 1° la virulence suffisante de l'agent infectieux, et 2° la disposition appropriée du terrain. Or, avec la même dose virulente, on observe fréquemment des variations de la pathogénicité chez les différents sujets, c'est-à-dire que le terrain n'est pas le même. Notre explication est la suivante : comme on sait, le taux de l'hémolyse sérique varie énormément d'un porc à l'autre. Un porc ayant déjà un titre hémolytique élevé à la suite d'autres influences exogènes ou endogènes, fera une incubation plus courte car la limite hémagglutinante ou hémolytique critique sera plus vite atteinte et dépassée. Le changement de l'état plasmatique est extrêmement brutale et l'organisme n'aura pas le temps de réagir suffisamment vite et de compenser les troubles par un mécanisme antagoniste. Ce porc fera par conséquent une forme grave de peste. Un autre animal chez lequel le titre est plus bas et la marge jusqu'au taux critique plus grande, aura le temps de réagir par des mesures appropriées, il fera plutôt une peste chronique et pourra guérir de l'infection.

Un argument en faveur de cette conception est le fait suivant : selon Maugeri [65], les fœtus et les porcelets nouveaux-nés ne possèdent pas encore d'ambocepteur anti-mouton. Celui-ci n'apparaît que 3 mois après la naissance et atteint le degré de la mère vers le 4^e mois. Or, lors d'une épizootie pesteuse, ce sont rarement les porcelets à la mamelle qui sont les premiers atteints, presque toujours ce sont les porcs sevrés et adultes qui sont les victimes de prédilection et font des formes foudroyantes. Même si la mère fait une peste aiguë, un porcelet à la mamelle fait une peste plutôt chronique, il reste chétif et se développe mal.

A propos du chapitre peste et porcelet à la mamelle, nous avons encore une réflexion à faire relative à la spécificité du virus pesteux. Il arrive fréquemment que des truies exposées à l'infection naturelle ou vaccinées par la méthode simultanée au cours de la gestation avortent ou mettent au monde des porcelets malingres et sous-développés. Les lésions qu'on trouve

chez ces animaux démontrent une infection exclusive par le virus pesteux. Or, Pickens, Reed, Welsh et Poelma (1928) ont constaté qu'il n'est pas possible de transmettre la peste à des porcs adultes avec le sang de ces porcelets.

Egalement selon Uhlenhuth, Miessner et Geiger [101], le virus recouvert d'avortons ou de porcelets morts de peste est dans la plupart des cas atténué donnant ou bien une maladie légère ou simplement une immunité antipesteuse ou ni l'une ni l'autre.

Ceci semble indiquer que le virus — un élément globuline — requiert pour son développement non pas des acides aminés essentiels, comme certaines bactéries, mais des protéines plus complexes — dans ce cas des globulines — présents chez les porcs sevrés et adultes, et absents ou à un taux insuffisant dans les fœtus et les nouveaux-nés. Dans l'infection intra-utérine, il s'adapte à un milieu déficient et par cette adaptation, il perd son potentiel végétatif pour l'animal sevré et adulte.

D'ailleurs, on pourrait appliquer cette même réflexion à l'adaptation du virus du lapin. En effet, en comparant les formules complémentaires données par Rice et Crowson (1950), on constate des analogies troublantes :

Lapin	$C_3 \ C_4 \ C_2 \ C_4$	Importance qualitative par ordre décroissant des différents compo- sants du complément des sérums.
Porc	$C_3 \ C_4 \ C_2 \ C_4$	
Bœuf	$C_1 \ C_3 \ C_2 \ C_4$	
Cobaye	$C_4 \ C_1 \ C_3 \ C_2$	
Homme	$C_1 \ C_4 \ C_3 \ C_2$	

Dans le premier groupe, on constate que les fractions portées par les globulines ($C_1 \ C_3$) prédominent par rapport aux fractions portées par les albumines ($C_2 \ C_4$). Pour le deuxième groupe du cobaye et de l'homme, cette séparation est moindre et c'est surtout C_4 qui se fait remarquer, tandis qu'elle occupe la dernière place dans le premier groupe. Ne peut-on voir dans cette coïncidence une signification plus profonde ?

N'est-ce pas une des raisons pourquoi des viroses septicémiques du bœuf et du porc, comme les pestes, ont pu être adaptés au lapin plutôt qu'au cobaye, tandis que pour beaucoup de maladies humaines, le cobaye est plus facilement réceptif que le lapin ?

Le virus de la peste du porc persiste chez le lapin jusqu'à 12 jours après l'injection, chez le cobaye il ne se maintient que 8 jours seulement (Ten Broek, d'après Uhlenhuth, Miessner et

Geiger [100]). Ainsi, il semble que le virus forme chez le lapin comme chez le porcelet un terrain déficient mais non totalement hostile auquel il s'adapte définitivement mais qui le prive de son pouvoir végétatif chez le porc adulte. Si les globulines semblent avoir une telle importance pour le virus pestique, il serait à envisager d'examiner son comportement chez des lapins ayant un taux de globuline renforcé par exemple par une immunisation avec des globules rouges de mouton. On pourrait même s'attendre que dans ce cas le lapin fasse une peste clinique.

Résumé :

Les observations de Friendzel et Szymanowski et de Goodwin, Saison et Coombs qu'à côté de l'augmentation de l'hétérohémostase anti-mouton les sérums de porcs vaccinés avec un virus suipestique vivant acquièrent un pouvoir iso-agglutinant et iso-hémolytique élevé pour les hématies de porc, nous permettent d'expliquer les principaux troubles de l'infection pestique par un mécanisme purement humoral.

Selon notre conception, le virus — en se développant dans l'organisme — augmente le taux des globulines sériques et crée ainsi un déséquilibre en faveur, en particulier, des globulines intervenant dans le mécanisme physiologique du renouvellement des éléments cellulaires du sang. En même temps, ce déséquilibre humoral affecte la défense anti-infectieuse permettant ainsi la sortie des infections des germes saprophytes du porc.

HEMOLYSINE ET ROUGET

L'hémolysine semble jouer un rôle non seulement dans la peste porcine mais intervient également dans la défense de l'organisme vis-à-vis d'autres agents pathogènes. Les faits qui nous permettent ce rapprochement reposent sur une observation de T.-M. Doyle [17, 18]. La grande majorité des chercheurs sont d'accord que le porc est assez réfractaire à l'inoculation expérimentale, par voie sous-cutanée ou intra-musculaire, du bacille du rouget. Il est sans doute vrai que la forme aiguë de la maladie peut, par hasard, être reproduite artificiellement, mais la plupart des tentatives de transmission se terminent par un échec.

D'autre part, la résistance à l'infection artificielle ne peut pas toujours être attribuée à une immunité acquise par une infection naturelle inaperçue parce que des porcs provenant des régions dans lesquelles la maladie est rare sont aussi fortement résistants. D'ailleurs ce n'est pas entièrement une question de virulence de microbe employé, parce que des souches isolées de formes septicémiques de la maladie (type S) chez des porcs infectés naturellement et reconnus par des épreuves sur la souris comme hautement virulentes, ne déterminent que des troubles légers quand on les inocule à des porcs. Il existe, évidemment, quelque facteur accessoire inconnu ; même, dans les conditions naturelles, la maladie est principalement saisonnière dans sa fréquence et est habituellement liée au temps chaud, humide, avec une chute rapide de la pression atmosphérique ou un changement brusque de température.

Or, Doyle fait cette observation intéressante que chez les porcs immunisés contre la peste par le vaccin au cristal violet et soumis à l'inoculation d'épreuve par un virus virulent, le pourcentage des réussites par l'inoculation d'érysipelothrix rhusiopathiae par voie intra-cérébrale et par voie intra-musculaire est beaucoup plus grande que pour des porcs non préparés

préalablement par le vaccin et le virus pestique. Ainsi, sur un total de 19 porcs préparés par le virus pestique et inoculés par voie intra-cérébrale par le bacille du rouget, 16 sont morts de rouget aiguë, 3 ont présenté de violentes réactions mais sont guéris, alors que sur 14 porcs non vaccinés au préalable, un seul est mort, 5 ont présenté des réactions violentes, et les autres n'ont eu que des manifestations insignifiantes ou sont restés normaux.

Cette observation a été vérifiée par Thomson et Geldhill [98]. Elle cadre également avec la constatation faite en Amérique que pendant les vingt dernières années, l'incidence du rouget a été notablement augmentée dans les régions où cette méthode de vaccination antipesteuse a été extensivement utilisée.

Notre rapprochement entre hémolysine et rouget se base sur deux faits :

1° Nous savons depuis Szymanowski et Frendzel [25] que dans les sérums antipesteux l'hémolysine anti-mouton est très forte, et que les sérums sont capables de lyser les érythrocytes de porcs normaux. Il ressort de nos recherches que dans la phase aiguë de la peste l'hémolysine anti-mouton est triplée ou quadruplée.

2° Maugeri [65] avait démontré que l'hétérohémolysine anti-mouton est absente chez le fœtus et le porcelet nouveau-né ; elle n'apparaît que trois mois après la naissance pour atteindre le taux de leur mère vers le 4^e mois.

Or, il est classiquement admis que les porcelets à la mamelle ne sont pas réceptifs au rouget même si leur mère est atteinte de cette maladie pendant l'allaitement, et que la sensibilité apparaît trois ou quatre mois après la naissance (*).

C'est une curieuse coïncidence que les porcins dépourvus de l'hémolysine sont réfractaires à l'infection naturelle, et que des porcs ayant un très fort titre hémolytique de sérum sont aussi plus sensibles à l'infection expérimentale. Ne devrait-on pas voir dans le facteur inconnu de Doyle cette fraction globulini-

(*) Les observations plus récentes d'infections de porcelets à la mamelle par le Rouget n'infirme pas notre hypothèse. Ils pourraient simplement indiquer que l'âge de formation des anticorps hémolytiques tend actuellement à progresser vers des stades plus précoces de la vie des sujets. Il serait possible que la vaccination contre la Peste des truies gestantes joue ici un rôle important.

que dont les variations sont réciproques à la susceptibilité des porcs au rouget ?

Quant au mécanisme de son action, nous l'expliquons de la manière suivante :

a) Le bacille du rouget requiert pour son développement cette fraction sérique, car il est très peu probable d'admettre une augmentation de résistance chez des porcelets nouveau-nés, notamment dans ces cas où la mère elle-même est sensible à l'agent pathogène envisagé. Aussi sait-on bien que le bacille du rouget isolé de l'organisme ne pousse que très mal sur des milieux de culture non additionnés de sérum frais.

Il est même capable de se développer dans du bouillon additionné de sérum hyperimmun anti-rouget (Goret, Wellmann), une particularité dont se sert Wellmann [111] pour tirer des anticorps spécifiques du rouget des sérums porcins.

b) D'autre part, cette notion empirique de la clientèle rurale que dans des cas de rouget débutant, de vieux sérums de cheval périmés (anti-rouget ou contre d'autres infections microbiennes) injectés à de fortes doses sont capables d'arrêter l'évolution de la maladie pourraient être placés sur le même plan. Ainsi, à côté de l'explication de ce phénomène admis jusqu'alors que cette injection produirait un choc colloïdologique stimulant la défense organique, il serait également à envisager qu'il y ait là, en quelque sorte, la restitution d'un équilibre humoral troublé sous des influences extérieures. En effet, le vieillissement des sérums détruit avant tout les globulines, tandis que les albumines ne sont que peu ou pas affectées par ce procédé. Et c'est cette albumine qui entre ici en jeu, en neutralisant l'hyperglobulinémie favorable à l'éclosion du rouget.

Mais il y a aussi des contre-arguments. E. Jolowicz [51] avait constaté que les sérums de cobaye d'origine consanguine sont plus souvent hémolytiques que les sérums de cobaye normaux. Stern et Davidsohn [95] ont fait cette même observation sur la souris blanche. Ainsi, il serait possible que l'hémolysine de porc résulte du même mécanisme. On sait bien que les races actuelles améliorées ont été obtenues par une étroite consanguinité entre les reproducteurs. Or, la peste porcine est une maladie relativement récente et son début coïncide avec la diffusion des races améliorées dans le monde. Ainsi, la peste

porcine tomberait dans le cadre des maladies dites de « la civilisation » de Lesbouyries. Le rouget, par contre, est une maladie ancienne. Si le taux des globulines est en corrélation avec la réceptivité des animaux pour le rouget, l'incidence de celui-ci devrait être plus grande pour les races améliorées. Certes, les porcs améliorés semblent être plus réceptifs pour le rouget, les races autochtones (comme par exemple la race Mangaliza de Hongrie) étant plus résistantes. Mais pour Doyle, il y a peu de raisons de soutenir l'opinion classique que la réceptivité au rouget varie avec la race de porc. Egalement, en Angleterre, pays mère de l'amélioration de l'espèce porcine, le rouget affecte le plus souvent la forme chronique et non la forme aiguë qui, elle, est plus répandue sur le continent européen.

Il est difficile de dire si ce fait contradictoire met en question :

a) le rôle de la consanguinité dans l'aptitude à la production d'hémolysine naturelle ;

b) le rôle de l'hémolysine dans le rouget ou s'il y a d'autres facteurs intervenant dans la pathogenèse du rouget.

Si ceci n'est qu'une conception hypothétique et demande des vérifications expérimentales, on peut cependant expliquer avec cette hypothèse des faits rencontrés en clinique et observés dans les laboratoires.

Résumé :

La susceptibilité du porc au rouget paraît être en rapport avec le titre hémolytique du sérum des animaux. Le pouvoir hémolytique étant dû à des globulines, ce titre reflète, à une certaine mesure, le taux des globulines sériques. L'éclosion de la forme aiguë du rouget semble être favorisée par une hyperglobulinémie dont une cause — parmi d'autres — peut être la vaccination contre la peste porcine.

DISCUSSION

Quelles déductions d'intérêt pratique pouvons-nous tirer des constatations que nous avons faites jusqu'ici ?

Il est certain que les résultats obtenus avec les sérums de lapin dans la déviation du complément sont incomplètes. Il est classique d'exiger des réactions sérologiques, 1° d'être spécifiques, 2° d'être sensibles, et 3° d'être d'exécution facile.

Notre réaction est-elle spécifique ? Nous n'en savons rien, car aucun antigène pathologique autre que de la peste n'a été soumis à l'épreuve. Il ne nous était pas possible de nous procurer de tels antigènes dans des conditions adéquates. Cependant, il y a un argument en faveur de la spécificité : c'est que nous avons pu déceler des anticorps pestiques dans des sérums de lapins immunisés qui n'existaient pas chez ces animaux avant l'inoculation du matériel virulent. D'autre part, compte tenu des différences anticomplémentaires et procomplémentaires des extraits tissulaires, ces sérums hyperimmuns réagissaient avec les antigènes pestiques et non avec les antigènes provenant de porcs normaux.

Quant à la sensibilité, elle n'est pas non plus très grande. Certes, nous avons obtenu des différences assez nettes entre les séries pesteuses et les séries témoins. Mais il y a tant de facteurs secondaires gênants aussi bien dans les sérums de lapin que dans les extraits antigéniques que les causes d'erreur sont fréquentes exigeant des titrages accessoires qui sont toujours laborieux. Le pourcentage des lapins produisant des anticorps à des taux suffisants est assez restreint, et tous les extraits tissulaires de porcs à peste ne conviennent pas pour la réaction. L'exécution du test est rendu plus difficile par la longue incubation de 48 heures des complexes antigène-anticorps avant l'addition du complément.

Ainsi, la réaction n'a que très peu d'intérêt pratique surtout qu'elle ne pourra servir que pour le diagnostic *post mortem* ou pour des besoins de l'expérimentation au laboratoire.

On se passera d'autant plus volontiers des sérums de lapin pour les diagnostics sérologiques de la peste que nous sommes convaincu que l'emploi des sérums hyperimmuns de porc donnera des résultats beaucoup plus intéressants. En effet, au cours de ces études, nous avons fait la constatation que le rejet des travaux de Healy et Smith [35] et Dedjulin [16] sur la déviation du complément avec des sérums de porc a été fait à tort par Manning [63]. Cet auteur base son jugement défavorable sur le fait que la présence de l'hémolysine dans les sérums de porc ne pouvait pas permettre des fixations spécifiques et que les résultats de Healy, Smith et Dedjulin seraient plutôt dus à des phénomènes anticomplémentaires non spécifiques simulant des fixations du complément par l'antigène et les anticorps pestiques. Il nous semble que certains détails indiqués dans ces publications ont probablement échappé aux chercheurs voulant reproduire les mêmes expériences, mais ils ont échoué justement parce qu'ils n'ont pas observé ces détails. Comme nous avons pu le constater, l'hémolysine des sérums de porc est complètement inactivée par vieillissement au réfrigérateur à $+ 4^{\circ}$ (mais non congelé) au bout de trois mois. Or, Healy et Smith indiquent que les sérums immuns étaient conservés à la glacière pendant quatre mois, donc ils ne pouvaient plus contenir l'hémolysine anti-mouton. Egalement, leur antigène était trituré, laissé sur glace pendant une nuit, puis additionné de bouillon glucosé à 10 %, laissé sur glace encore pendant dix jours, puis filtré sur bougie Chamberland et utilisé non chauffé dans l'essai. Ils précisent également que ce délai de huit jours est nécessaire pour que l'antigène se développe et que le pouvoir antigénique diminue progressivement, devenant négatif au bout de vingt-huit jours. Nous avons constaté que l'effet de vieillissement est proportionnel au titre hémolytique initial d'un sérum porcin. Un sérum faiblement hémolytique peut bien être inactivé complètement après huit jours. Or, le titre hémolytique des ganglions représente toujours une fraction du titre sérique du même animal. Ainsi, il est probable que ce repos de huit jours a pu enlever la plus grande partie de l'hémolysine. Cette explication cadre bien avec le postulat des auteurs pour la préparation des antigènes. Il suffit déjà qu'un des chercheurs antérieurs ait congelé les sérums au lieu de les garder sur glace, pour que ces essais de vérification donnent des résultats insatis-

faisants. Des réflexions analogues peuvent être appliquées aux travaux de Dedjulin. Son antigène était de la moelle osseuse diluée à 10 % dans de l'eau physiologique formolée à 0,5 %. Cet antigène était placé à l'agitateur pendant cinquante heures. Or, il n'y a pas de doute pour nous que l'hémolysine et le troisième composant du complément sont des substances de constitution et de comportement très proches. On sait que le complément est détruit par agitation (Jacoby et Schutze [50]) et que c'est la fraction thermostable, en particulier C'3 qui est atteint (Ritz, Schmidt, Kashiwabara, Hecht, Gordon, Hoyle [84, 40, 27]).

Manninger lui-même relate que les sérums défibrinés par agitation sont beaucoup moins hémolytiques (environ 50 %) que les mêmes sérums exsudés spontanément du caillot sanguin. Si une courte agitation réduit déjà l'hémolysine notablement, une agitation de cinquante heures devrait l'attaquer encore beaucoup plus. Enfin, si le formol est capable de détruire C'3, (Kossovitch et coll. [58]), il faut se demander s'il n'exerce pas son action sur l'hémolysine antimouton. Dedjulin ne donne pas d'indication sur la conservation de ses sérums mais il est probable qu'il les ait conservés à la glacière, beaucoup plus répandue dans les laboratoires en 1914 que le congélateur qu'on utilise aujourd'hui pour la conservation des sérums.

Il est intéressant de constater que les résultats relatés par King et Drake [55] avec *spirochaeta hyos* qui sont certainement non spécifiques, reposent sur le même mécanisme. Ces auteurs indiquent dans leurs tableaux les dates de récolte des sérums et les dates de l'essai sérologique. Leurs sérums antipestueux étaient presque tous âgés de quelques semaines, tandis que les sérums normaux étaient essayés peu de temps après la récolte. Ainsi, leur sérums normaux étaient hémolytiques, donc hémolysaient dans les essais, les sérums pestiques n'étaient pas hémolytiques et montraient une pseudo-inhibition de l'hémolyse que ces auteurs attribuaient à une fixation spécifique du complément par des spirochaetes.

On voit combien cette question est compliquée et combien il est nécessaire de prendre des précautions pour se mettre à l'abri des erreurs d'interprétation.

Récemment, P. Boulanger [109] a indiqué une technique pour l'élimination de la substance interférante dans la déviation du complément avec les sérums porcins : le sérum de porc est

acidifié à pH 4,2 avec de l'acide chlorhydrique 1/N, puis est mis au réfrigérateur à $+ 9^{\circ}$ C. pendant 18 heures. Au cours de ce traitement il se produit une précipitation. Après ce délai, on neutralise avec de la soude 1/N, ce qui amène la reclarification des sérums précipités. Enfin, on inactive à 56° C. pendant 30 minutes. Pour des sérums ainsi traités, le pouvoir procomplémentaire serait éliminé, tandis que les anticorps spécifiques de la stomatite vésiculaire ne semblent pas être influencés par l'abaissement temporaire du pH.

Ces constatations sont tout à fait en accord avec notre conception du phénomène inhibiteur de la fixation du complément des sérums porcins. On sait bien que les globulines sont précipitées par le fractionnement acide, et que l'hémolysine suit le même sort. Mais il est intéressant de constater que cette inactivation est irréversible, car après clarification, au cours de la neutralisation le pouvoir inhibiteur ne réapparaît plus.

Il faut cependant se demander dans quelle mesure l'acidification et le vieillissement prennent part dans l'inactivation. Nous avons constaté au cours de nos recherches que souvent les sérums faiblement hémolytiques peuvent complètement perdre leur pouvoir hémolytique par un vieillissement de 15 à 18 heures à $+ 4^{\circ}$ C.

Quoi qu'il en soit, cette technique mérite d'être essayée dans la peste porcine.

En conclusion, il nous semble plus avantageux d'utiliser des sérums de porc dans les recherches sérologiques des maladies à ultravirus. L'emploi des sérums de lapin ne sera qu'un pis-aller.

Que faut-il penser du rôle de l'hémolysine dans la pathologie de la peste porcine ? C'est un fait assez frappant de constater que le virus est de nature globulinique, que l'hémolysine est une globuline et que les anticorps spécifiques sont également des globulines (Gayot [26]). Il semble donc que l'infection pestique est une affaire uniquement entre globulines. Pourquoi le virus a-t-il une affinité spéciale pour les érythrocytes ? Il y a deux explications plausibles :

— Ou bien le virus prélève la globuline nécessaire pour sa genèse de l'hémoglobine de l'hôte, donc il attaquera les hématies en premier lieu, comme par exemple les bactériophages

s'attaquent aux bactéries, s'y multiplient et sont ensuite libérés en masse par la destruction de la cellule parasitée.

— Ou bien l'absorption est un phénomène général pour des globulines ; ainsi les érythrocytes absorbent invariablement les hémolysines de nature globuline et les virus et ce serait un phénomène physico-chimique banal.

La première conception nous convient mieux, mais il faut avouer que nous n'avons aucune preuve pour son exactitude. Le virus prélève la globuline et la couple à sa lipide spécifique. En se multipliant ainsi, le virus accroît le taux des lipido-globulines sériques de l'organisme-hôte qui, eux, ont un rôle déterminé dans les phénomènes végétatifs de l'hôte, en particulier, dans le renouvellement physiologique des éléments cellulaires sanguins et dans la bactériolyse. Comme pour toutes les fonctions végétatives, ces deux phénomènes ne s'accomplissent que dans un milieu équilibré. Dans ce système plasmatique, les quatre fonctions du complément occupent une place importante. L'organisme essaiera toujours de maintenir cet équilibre et les éléments cellulaires peuvent s'adapter dans une certaine mesure aux changements humoraux sans que les phénomènes vitaux soient notablement perturbés. Mais dès que ce potentiel adaptatif est dépassé ou que les mesures de régulation deviennent insuffisantes, l'état pathologique est réalisé. Les causes de ces perturbations peuvent être multiples et variées.

A cet égard, un article de Wuhrmann [108] sur quelques problèmes actuels de la pathologie humorale est particulièrement suggestif. L'auteur relate quelques cas cliniques de syndromes hémolytiques et hémorrhagiques dans lesquels l'hyperglobulinémie était constante. Il conclut que le tableau humoral du sang dans sa grande variété des différentes manifestations biologiques et cliniques — aujourd'hui à peine connues et étudiées — représente à un certain degré le reflet de la réactivité de l'organisme humain et de ses diverses formes et potentialités réactionnelles vis-à-vis des influences nocives extrinsèques et intrinsèques. De plus en plus, la pathologie humorale moderne, en particulier l'hématologie, tend à réanimer l'ancienne doctrine des dyscrasies de l'organisme.

En ce qui concerne la défense organique, Pfannenstiel [73] prend une position à peu près semblable. Il dit : « La santé est

un jeu antagoniste de forces dynamiques et statiques soumises pendant la vie à une régulation constante. Cet état trouve sa terminaison avec la mort, permettant ainsi l'envahissement immédiat de l'organisme par de nombreux microorganismes. Les agents essentiels de la défense organique sont les éléments du système réticulo-endothélial qui interviennent soit directement (phagocytose), soit indirectement en fournissant *in vivo* des substances pour l'état optimum de la bactéricidie du plasma. Cet optimum représente un milieu équilibré par un mécanisme complexe. Toutes les influences troublant ce milieu dans sa structure colloïdale-disperse ou visqueuse, de son pH ou de sa teneur physiologique en protéines, lipides et sels minéraux affaiblissent inévitablement la bactéricidie du sérum. Jamais, on ne réussira à augmenter — à des fins prophylactiques — la résistance naturelle au-delà de son niveau normal et optimum. Un organisme ne pourra être plus sain que sain. Il essaiera toujours à ramener une hyperbactéricidie à son niveau naturel. Si cela lui est impossible il se constituera un état morbide aussi dangereux qu'une hypobactéricidie durable. Le pouvoir bactéricide du sang ne se comporte pas autrement que n'importe quelle autre fonction physiologique. Comme la glycémie est réglée par des efforts combinés d'éléments divers, aussi la bactéricidie de l'organisme sain oscille-t-elle autour d'une moyenne physiologique. »

Sous ce même angle de vue, nous envisageons la pathologie de l'infection pesteuse. Le virus crée un état dyscrasique du milieu intérieur affectant à la fois le système vasculaire et la défense organique.

Toute cette conception est bâtie uniquement sur un faisceau de présomptions. Elle représente cependant un essai de placer les différentes manifestations cliniques sur un plan étiologique commun et compréhensible. Elle constitue une hypothèse de travail pour une vérification expérimentale qui, seule, pourra nous dire si nous avons raison ou tort.

CONCLUSION

I. — L'emploi des sérums de lapins hyperimmunisés avec le virus lapinisé de la peste porcine semble donner en combinaison avec des antigènes tissulaires de porcs pesteux, des fixations spécifiques du complément. Cependant, la faible sensibilité et les manipulations très laborieuses de la technique employée s'opposent à l'usage courant pour le diagnostic de la peste porcine.

II. — Des essais effectués avec des sérums de cobaye, selon la même technique, n'ont pas donné des résultats concluants.

III. — Les expériences ont démontré que l'hémolysine naturelle antimouton — cause essentielle des échecs avec des sérums porcins — est non seulement présente dans le sérum, mais encore dans les divers organes de porcs pestiques. Ce fait doit être pris en considération dans les essais de fixation de complément.

IV. — L'origine, la nature et le comportement de cette hémolysine sont discutés. En particulier, il est démontré que le vieillissement détruit l'hémolysine antimouton.

V. — Hémolysine et pouvoir procomplémentaire des sérums porcins montrent dans leur nature et leur comportement tant d'analogies qu'ils semblent être l'expression d'un même facteur humoral contenu dans la fraction globuline du sérum. La fonction du troisième composant du complément montre une constitution très proche mais se différencie de ce facteur par une plus faible thermorésistance.

VI. — L'hémolysine antimouton est augmentée dès le début de la peste porcine. Cette augmentation semble être en rapport direct avec l'infection pestique. Elle semble également avoir des rapports étroits avec les iso-agglutinines et iso-hémolysines décrites par Freundzel et Szymanowski et par Goodwin, Saison

et Coombs dans les sérums de pores vaccinés contre la peste porcine. Cette modification humorale semble être la cause majeure des désordres cliniques de la peste.

VII. -- Cette modification humorale semble jouer également un rôle dans la pathogénie du rouget du porc.

VIII. — Le jugement défavorable d'autrefois des travaux d'Healy, Smith et Dedjulin sur la déviation du complément dans la peste porcine doit être révisé. Il est démontré que le facteur principal invoqué contre ces travaux - l'hémolysine antimouton - était absent ou négligeable dans le dispositif d'essai de ces auteurs. Ces travaux gardent tout leur intérêt. Ils méritent d'être repris et vérifiés, en tenant compte des notions nouvellement acquises.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
GORET.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
JUNG.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
A.-H. HERMANN.

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE
PROFESSEUR **SEDALLIAN.**
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 3 Juin 1955.
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAKER J.-A. (1946). — Serial passage of hog-cholera virus in rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 63 : 183.
2. BAKER J.-A. (1947). — Attenuation of hog-cholera virus by serial passages in rabbits. *J. A. V. M. A.*, 111 : 503.
3. BAIL O. (1914). — Untersuchungen ueber Normal-haemolysine. *Zsch. Im. Fsch.*, 21 : 202.
4. BAUER J. (1908). — Zur Methodik des serologischen Luesnachweises. *Dsch. Med. Wsch.*, 1908 : N° 16 et *Berl. Klin. Wsch.*, 1908 : 835.
5. BANKOWSKI R.-A., WICHMANN R., KUMMER M. (1953). — A complement fixation test for identification and differentiation of immunological types of the virus of vesicular exantheme of swine. *Am. Journ. Vet. Res.*, 14 : 145.
6. BESSEMANS A. (1913). — De l'importance respective des deux constituantes de l'alexine dans le phénomène de l'hémolyse. *Zsch. Im. Fsch.*, 17 : 36.
7. BROWNING C.-H. et MACKIE T.-J. (1914). — Etudies on complement action, with special reference to the fractionning of complement by means of ammonium sulphate. *Zsch. Im. Fsch.*, 21 : 422-446.
8. CONNAWAY (1914). — *Missouri State Exp. Station Bull.*, 131 (cité par Manninger (63).
9. CAMAND R. (1953). — Etude sérologique des types et des variantes du virus aphteux par la réaction de fixation du complément. *Thèse vét.*, Lyon, 1953.
10. CHAPIN R.-M., POWICK W.-C., MAC BRYDE (1939). — The influence of hydrogen-ion concentration on the survival of hog-cholera virus in defibrinated blood. *J. A. V. M. A.*, 95 : 494-498.
11. BIOCHEM DIV. U. S. ANIMAL IND. (1938). — Acid hog-cholera virus, *J. A. V. M. A.*, 92 : 113.
12. COLE, HENLEY, HUBBARD (1946). — Concentration of hog-cholera virus in the blood of artificially infected swine at different stages of the disease. *J. A. V. M. A.*, 108 : 143-146.
13. COOPER (1946). — Complement fixation test in rinderpest. *Journ. Am. Vet. Res.*, 7 : 228.
14. CUSHING jr. (1945). — A compartive study of complément
 - I. - The specific inactivation of the components.
 - II. - Interaction of components. *Immun.* 50 : 61-75.

15. DAVID W. (1931). — Untersuchungen ueber das Verhalten des Schweinepestvirus bei Fäulnis und Austrocknen. *Berl. T. Wsch.*, 47 : 17-22.
16. DEDJULIN (1908). — Versuch zum Nachweis des Erregers der Schweinepest mit Hilfe der Komplementbindung. *Zsch. Infkr. Hst.*, 3 : 313.
17. DOYLE T.-M. (1947). — Immunization against swine erysipelas. *Vet. Journ.*, 103 : 11.
18. DOYLE T.-M. (1952). — Immunisation contre le rouget du porc. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 20^e sess., 38 : 140.
19. DOERR R. (1947). — Antikörper, collection « *Die Immunitätsforschung* ».
20. DONATIEN A. et GAYOT (1953). — Peste porcine et cobaye. *Arch. Inst. Pasteur, Alger*, 29 : 11-15.
21. DODD C. et WHITE R.-G. (1910). — On the recognition of the individual by hemolytic methods. *Proc. Roy. Soc. London*, B. 82 : 416.
22. FREUND J. (1929). — Distribution of antibodies in the serum and organs of rabbits. II. - Hemolysins and precipitins. *Journ. Imm.*, 16 : 275.
23. FRAENKEL E. (1910). — Ergebnisse bei der Spaltung des haemolytischen Komplementes in Mittel und Endstück. *Zsch. Im. Fsch.*, 8 : 781.
24. FRAENKEL E. (1911). — Ueber Serum-haemolysine. *Zsch. Im. Fsch.*, 10 : 388.
25. FRÉNDZEL J. et SZYMANOWSKI Z. (1934). — Recherches sur les immuno-anticorps du sang du porc. *C. R. Soc. Biol.*, 117 : 540.
26. GAYOT G. (1950). — Localisation des anticorps dans le sérum anti-suipestique. *Arch. Inst. Pasteur, Alger*, 28 : 145.
27. GORDON J. et HOYLE L. (1933). — The inactivation of bactericidal and haemolytic complement on standing. *Journ. of Hyg.*, 33 : 411.
28. GORILL R.-H. et HOBSON D. (1952). — The properties of complement. *Bull. of Hyg.*, 27 : 1-10.
29. GURBER (1899). — Zur Kenntnis der Chemie und Physiologie des Blutserums, cité par Sachs (89).
30. GORET P., MACKOWIAK C., LUCAM F. et GIRARD H. (1953). — Recherches expérimentales sur l'immunisation du porc contre la peste porcine à l'aide du virus modifié par passage sur le lapin. *Bull. Acad. Vét. France*, 26 : 495.
31. MARION P. et GORET P. (1953). — Immunisation du porc contre la peste porcine. Emploi dans la pratique du virus lapinisé. *Bull. Acad. Vét. France*, 26 : 509.
32. GIRARD H., MACKOWIAK C., GORET P., JOUBERT L. et LUCAM F. (1953). — Etude d'une souche marocaine du virus de la peste porcine. *Bull. Acad. Vét. France*, 26 : 555.
33. GORET P., JOUBERT L., GIRARD H., MACKOWIAK C. et LUCAM F. (1953). — Essais de dépistage de la pneumonie à virus du porc en France. *Bull. Acad. Vét. France*, 26 : 569.

34. HAYWARDS M.-E. (1949). — Serological studies with herpes simplex virus. *Brit. Journ. Exp. Path.*, 30 : 520.
35. HEALY D.-J. et SMITH W.-V. — Complement fixations in hog-cholera. *Journ. Inf. Dis.*, 17 : 713.
36. HEIDELBERGER M. (1951). — Conference of complement. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 37 : 187.
37. HANSSON H. (1932). — Ueber Komplement variationen des Blutes gesunder und tuberculös infizierter Meerschweinchen. *Zbl. Bakt.*, 231 : 94.
38. HEGEDUES A. et GREINER H. (1938). — Quantitative Bestimmung der Komplementbestandteile. *Zsch. Im. Fsch.*, 92 : 1-9.
39. HECHT H. (1909). — Untersuchungen ueber haemolytische, eigenhemmende und komplementaere Eigenschaften des menschlichen Serums. *Wien. Klin. Wsch.*, 1909 : 265.
40. HECHT H. (1923). — Das Komplement als Funktion physikalisch-chemischer Faktoren. Seine Beziehung zum Fieber, Anaphylaxie, Narkose und Rausch. *Zsch. Im. Fsch.*, 36 : 21.
41. HELLENS O. (1913). — Das Verhalten des Kaninchenserums zu der wassermannschen Reaktion. *Zsch. Im. Fsch.*, 17 : 156.
42. HESS et ROEMER (1906). — Experimentelle Untersuchungen ueber Antikoerper gegen Netzhautelemente. *Arch. Augenheilk.*, 54 : 13.
43. HAGAN et BRUNER (1952). — Infections diseases of domestic animals, 2^e édition.
44. HOET J.-J., BLOOMFIELD A.-M. et COOMBS R. (1954). — The selective absorption of hemolytic complement by antibodies from different species of animals. *Brit. Journ. Exp. Path.*, 35 : 32-34.
45. HUDSON J.-R. (1953). — Peste porcine : l'adaptation du virus au lapin et l'utilisation du virus adapté pour immuniser le porc. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 21^e session.
46. HUTYRA, MAREK et MANNINGER (1945). — Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 9^e édit. Gustav. Fischer Iena Edit.
47. IMIG F. (1928). — Die Verwertbarkeit der Komplementbindungsreaktion zur Diagnose der bornaschen Krankheit und der Tollwut. *Zsch. Im. Fsch.*, 55 : 403.
48. JONAS W. (1913). — Ueber die Wirkung verschiedener Serumarten auf das durch Cobragift inaktivierte Komplement. *Zsch. Im. Fsch.*, 17 : 539.
49. JACSBEUS H.-C. (1910). — Die stoerende Einwirkung der im Menschenserum enthaltenen natuerlichen Ambozeptoren bei der wassermannschen Reaktion. *Zsch. Im. Fsch.*, 8 : 615.
50. JACOBY M. et SCHUETZE A. (1910). — Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schuetzeln. *Zsch. Im. Fsch.*, 4 : 730.
51. JOLOWICZ E. (1913). — Ueber eigenloesende Eigenschaften des Meerschweinchen-serums und dadurch bedingte Fehlerquellen der Wa. R. *Dsch. Med. Wsch.*, 1913 : 798.
52. JONSEN J. MANSKI W. et HEIDELBERGER M. (1951). — Pig complement and its fractionation for the production of reagents containing C' 3. *Journ. Im.*, 67 : 385.

53. ITO T. (1912). — Ueber die Konzentration der Serumqualitaeten durch Gefrieren und ueber den Einfluss hoher Kaeltegrade auf die Antikoerper. *Zsch. Im. Fsch.*, 15 : 97.
54. KABAT E.-A. et MAYER M.-M. (1948). — Experimental immunochemistry. - Charles C. Thomas, Springfield, Ill. (U.S.A.).
55. KING W.-E., et DRAKE R.-H. (1916). — The antigenic value of spirochaeta hyos in complement fixation in hog-cholera. *Journ. of Inf. Dis.*, 19 : 46.
56. KOEVES J., v. HEGYEL. Z. et v. BOEZSY (1941). — Welche Proteinfractionen des Blutserums enthalten Schweinepestvirus ? Ref. dans *Jhrber. Vet. Med.*, 68 : 377.
57. KOPROWSKI, JAMES et COX (1946). — Propagation of hog-cholera virus in rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 63 : 178.
58. KOSSOWITCH, ILINE et COULON (1944). — Mécanisme de Phémolyse spécifique et rôle des différentes fractions du complément. *C. R. Soc. Biol.*, 138 : 170.
59. LEVADITI, LÉPINE et VERGÉ. — Les ultravirus des maladies animales. Libr. Malvine, Paris.
60. LÉPINE et SOHLER (1954). — Techniques de laboratoire appliquées au diagnostic des maladies à virus. Masson et Cie, éditeurs. Paris.
61. LANDOIS (1875). — Die Transfusion des Blutes. Leipzig, 1875, p. 149.
62. LUNDBACK H. (1949). — Serological diagnosis in mumps. *Brit. Journ. Path.*, 30^e : 221.
63. MANNINGER R. (1923). — Ist die Komplementbindungsprobe zur Untersuchung von Schweineseren geeiget ? *Arch. Wiss. Prakt. Tierhke*, 50 : 157..
64. MARKS H.-R. (1910). — Ueber gewisse qualitative und quantitative Beziehungen zwischen Endstueck und Mittelstueck der Komplemente. *Zsch. Im. Fsch.*, 8 : 508.
65. MAUGERI S. (1932). — Zur Entstehung des Komplements und Normalambozeptors beim Menschen, beim Schwein und bei der Ratte. *Zsch. Im. Fsch.*, 74 : 473.
66. MEIER G. (1907). — Die Technik, Zuverlaessigkeit und klinische Bedeutung der Wa. R. auf Syphilis. *Berl. Klin. Wsch.*, 1907 : 1636.
67. MILLE R. (1948). — Emploi du sérum de porc dans la-réaction de fixation du complément. *Ann. Biol. Clin.*, 6 année, : 47.
68. MISAWA T. (1934). — Ueber den Gehalt verschiedener Serumarten an thermostabilen Komponenten des Komplements. *Zsch. Im. Fsch.*, 83 : 177.
69. MICHAELIS L. (1907). — Die wassermannsche Syphilisreaktion. *Berl. Klin. Wsch.*, 1907 : 1103.
70. MORGAN, ENDERS et WAGLEY (1948). — A hemolysine associated with mumps virus. *Journ. Exp. Med.*, 88 : 503.
71. MUIR R. (1911). — Relationship between the complements and immune bodies. *Journ. Path. Bact.*, 16 : 523.
72. NAKAMURA (1950). — Recherches sur l'épreuve de la fixation du complément dans la peste bovine au Japon. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 19^e session : 96.

73. PFANNENSTIEL W. (1943). — Zum Wesen des natuerlichen Keimver-nichtungsvermoegens des Blutes. *Zsch. Im. Fsch.*, 104 : 166.
74. PAGÈS et DELAUNEY (1946). — Le complément dans la physiologie du leucocyte. *Rev. Immunol.*, 10 : 33.
75. PETTERSON A. (1943). — Die Leukozyten und die Immunität. *Zsch. Im. Fsch.*, 102 : 432.
76. POWICK et MAC BRYDE (1937). — Distribution of hog-cholera virus among fractions of virus blood. *Journ. Agr. Res.*, 54 : 221.
77. PRUNELL A. (1934). — Répercussion de l'hyperglobulinémie sur les réactions de Wassermann et Kahn. *C. R. Acad. Sc.*, 117 : 552.
78. PRUNELL et GALMES (1934). — Modifications des protéines du sérum dans la paralysie générale et ses rapports avec les réactions sérologiques. *C. R. Acad. Sc.*, 117 : 552.
79. RICE et BOULANGER (1952). — The interchangeability of the comple-ment components of different animal species. *Journ. Immunol.*, 68 : 197.
80. RICE C.-E. (1948). — Some factors influencing the selection of a comple-ment-fixation method. *Journ. Immun.*, 60 : 11.
81. RICE et BROOKSBY (1953). — Complement fixation in foot and mouth disease using direct and indirect methods. *Journ. Immunol.*, 71 : 300.
82. RICE et MAC KERCHER (1954). — Complément fixation in vesicular stomatitis in horse, cattle and swine. *Journ. Immunol.*, 73 : 309.
83. RICE et CROWSON (1950). — The interchangeability of the comple-ment components by different animal species. *Journ. Immunol.*, 65 : 201.
84. RITZ H. (1912). — Ueber die Wirkung des Cobragiftes auf die Kom-plemente. *Zsch. Im. Fsch.*, 13 : 62.
85. RISSLING P. (1907). — Beitræge zur Biologie normaler Tiersera. *Zbl. Bakt.*, 123 : 94.
86. ROBINEAUX R. (1950). — Sur le rôle du complément dans la physiologie du leucocyte humain. *Sang.*, 21 : 791.
87. ROEMER (1905). — Die Pathogenese der cataracta senilis vom Stand-punkte der Serumforschung. Cité par Sachs (89).
88. ROSSI O. (1911). — Absorption der im Menschenserum normaler-weise enthalten Ambozeptoren gegen rote Hammelblutkörper-chen. *Zsch. Im. Fsch.*, 10 : 321.
89. SACHS H. (1929). — Haemolysine. *Hdb. Path. Mikroorg.* 3^e édition, Verlag Gustav Fischer, Jéna.
90. SACHS H. (1905). — Ueber das Zusammenwirken normaler und im-munisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Haemolyse. *Dsch. Med. Wsch.*, 1905 : 705.
91. SACH et ALTMANN (1908). — Ueber die Wirkung des oelsauren Na bei der Wa. R. auf Syphilis. *Berl. Klin. Wsch.*, 1908 : 494.
92. SARNOWIEC W. (1933). — Variations sanguines chez les porcs atteints de peste, de paratyphoïde, pasterellose et pyobacillose. *C. R. Soc. Biol.*, 114 : 613.

93. SCHWARZ P. (1924). -- Einfluss des hammelblutlösenden Normalambozejorgehaltes des menschlichen Blutserums auf die Wa. R. *Dsch. Med. Wsch.*, 1924 : 641.
94. STERN C. (1913). -- Ueber eigenlösende Eigenschaften des Meer-schweinchensерums und dadurch bedingte Fehlerquellen auf die Wa. R. *Dsch. Med. Wsch.*, 1913 : 405.
95. STERN K. et DAVIDSOHN (1954). -- Heterohemoantibodies in inbreed strains of mice. Immun agglutinins and hemolysines for sheep and chicken red celles. *Journ. Immunol.*, 72 : 216.
96. SEMENITZ E. (1953). -- Die Bedeutung der heterophilen Haemolysine des menschlichen Serums für die Komplementbindungsreaktion. *Dsch. Med. Wsch.*, 1953 : 886.
97. TAKENOMATA N. (1924). -- Beiträge zur Kenntnis des haemolytischen Komplements und seiner Komponenten. *Zsch. Im. Fsch.*, 41 : 431.
98. THOMSON et GLEDHILL (1953). -- The demonstration of the protective value of a swine erysipelas vaccine in pigs. *Vet. Journ.*, 102 : 432.
99. UHLENHUTH, XYLANDER, HUEBENER et BOTZ (1908). -- Untersuchungen ueber das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. *Arb. Kaiserl. Gsdhamt.*, 27 : 425.
100. UHLENHUTH, MIESSNER et GEIGER (1929). -- Virusschweinepest. *Hdb. Path. Mikroorg.*, 3^e édit., 9 : 281.
101. UHLENHUTH, MIESSNER et GEIGER (1943). -- Zur Frage der placentaren Uebertragung von Infektion und Immunität und ihre praktische Bedeutung bei der Schweinepest. *Zsch. Im. Fsch.*, 104 : 384.
102. WASSERMANN, NEISSER, BRUCK et SCHUCHT (1906). -- Weitere Mitteilungen ueber den Nachweis spezifisch luetischer Substanzen durch Komplementverankerung. *Zsch. Hyg.*, 55 : 451.
103. WADSWORTH (1947). -- Standard methods of the Division of Laboratories and Research. N. Y. *State Dept. Health*, 3^e édit. - The Williams and Wilkins Cy Baltimore, U.S.A.
104. WEINECK E. (1939). -- Ueber die Aktivierung des Hühnerpestvirus durch Erythrocyten. *Zsch. Im. Fsch.*, 97 : 189.
105. WEINECK E. (1940). -- Ueber die Proteine-Lipoid-Symplex-natur des Hühnerpestvirus. *Zsch. Im. Fsch.*, 98 : 463 et *Die Naturwissenschaften*, 28 : 171.
106. ROHONYI N. (1930). -- Der Schutz der Saugferkel gegen Schweinepest. *Berl. T. Wsch.*, 1930 : 780.
107. RUCKS et MURRAY (1931). -- Infectivity of the cells of hog-cholera blood. *J. A. V. M. A.*, 78 : 691.
108. WUHRMANN (1954). -- Einige actuelle Probleme aus der Humoralpathologie. *Bull. Schweiz. Akad. Wss.*, 10 : 180.
109. BOULANGER P. (1954). -- A premilinary note on a method of inactivating substance or substances in swine sera that interfere with the detection of antibodies by the complement fixation test. *Can. Journ. Comp. Med.*, 18 : 423.

110. BEDSON-BLAND (1929). — Complement fixation with filtrables viruses and their antisera. *Brit. Journ. Exp. Path.*, 10 : 393.
111. WELLMANN G. (1955). — Die subklinische Rotlaufinfektion und ihre Bedeutung fuer die Epidemiologie des Schweinerotlaufs. *Zbl. Bakt.*, 162 : 265.
112. GOODWIN, SAISON et COOMBS (1955). — The bloodgroups of pigs. - II. Redcell isoantibodies in the sera of pigs injected with crystal-violet swine-fever vaccine. *Journ. Comp. Path. and Ther.*, 65 : 79.

TABLE DES MATIERES

<i>Avant-Propos</i>	7
<i>Introduction</i> : Intérêt d'un diagnostic sérologique in vitro.	9
<i>Première Partie</i> : Travaux antérieurs.	11
<i>Deuxième Partie</i> : Travaux personnels.	15
— Principe des recherches	15
— Préparation des sérums hyperimmunisés.	17
— Préparation des antigènes	20
— Complément	23
— Couple hémolytique	24
— Résultats	26
— Essais avec des sérums de cobaye.	35
<i>Troisième Partie</i> :	
L'hémolysine antiglobules rouges de mouton du sérum porcin.	37
Hémolysine, pouvoir procomplémentaire et 3 ^e composant du complément	46
Hémolysine et Peste porcine.	50
Hémolysine et Rouget du Porc.	57
<i>Discussion</i>	61
<i>Conclusion</i>	67
<i>Bibliographie</i>	69

